

a<sup>61</sup>/<sub>20316</sub>

Гиз

## 1985

Проф. А. А. МИЛЛЕР

# САНИТАРНАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

ИЗДАНИЕ ТРЕТЬЕ  
ДОПОЛНЕННОЕ И ИСПРАВЛЕННОЕ

*28 рисунков*



ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО  
БИОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ  
МОСКВА—ЛЕНИНГРАД

1 9 3 5

Настоящая книга предназначена служить учебником для студентов санитарно-гигиенических факультетов. Она имеет целью осветить современное состояние бактериологии воздуха, воды, почвы, молока, пищевых продуктов, бактериологический контроль дезинфекции и дать врачу и студенту справочник по указанным вопросам (как брать пробы для исследования, какие задачи ставить при заказе анализа и как оценивать те или иные результаты). Для лабораторных работников книга дает методику санитарно-бактериологических исследований, в особенности в отделах специального характера.

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Важнейшей задачей здравоохранения является проведение широких оздоровительных и санитарных мер, имеющих целью предупреждение наступления и развития заболеваний, оздоровление условий труда и быта и тем самым осуществление заботы о человеке, поднятие производительности труда и ускорение социалистического строительства.

Санитарная охрана воздуха, жилища, почвы, воды, пищевых веществ поэтому должна стоять на первом месте в плане работ санитарной организации. Широкое оздоровление среды—необходимая предпосылка поднятия культурного уровня трудящихся, являющегося одной из задач второй пятилетки.

До сих пор бактериология сравнительно мало участвовала в такого рода деятельности санитарных организаций.

Главное внимание бактериологов было устремлено на предупреждение развития эпидемий путем предохранительных прививок. Но, как бы удачны ни были те или иные прививки, задача иммунизировать все население против всех инфекций представляется видимо более сложной, чем проведение широких оздоровительных мер, создающих условия, при которых заболевания вообще не возникают.

Некоторая отсталость бактериологии при разработке и проведении социально-экономических мероприятий требует значительного усиления внимания этой стороне практического применения нашей науки, равно как и разработке теоретических проблем, обосновывающих практику. Поэтому сейчас надлежит обратить достаточное внимание на использование бактериологии для целесообразного проведения различных санитарных мероприятий общего характера.

Решения партии и правительства о коммунальном благоустройстве городов, решения ЦК ВКП(б) от 10/VIII 1931 г. и от 22/XII 1933 г., решения XVI Всероссийского съезда советов, речь т. Сталина 4/V 1935 г. требуют от органов здравоохранения коренной перестройки своей работы. Перестройка должна совершиться на солидной научной основе, в создании которой бактериология должна играть крупную роль, а по некоторым разделам (например пищевая санитария) даже ведущую роль.

Из основных задач, стоящих сейчас перед санитарной бактериологией, изучающей среду, окружающую здорового человека, следует отметить необходимость систематически выявлять источники инфекции и все условия, способствующие возникновению эпидемии, незави-



симо от наличия последних. Необходимо подойти и к вопросу о предсказывании эпидемии. Только работа в этом направлении дает возможность выполнить полностью указание т. Каминского: «хвостизм в борьбе с эпидемиями надо решительно прекратить,—пожар тушить надо тогда, когда появляются первые искры».

Возникшая в СССР мощная пищевая промышленность и широкое развитие общественного питания (в 1933 г. сеть общественного питания отпустила 9 500 000 000 блюд) требуют неослабного внимания к ее санитарному состоянию и доброкачественности продукции, требуют дать объективные показатели того или иного состояния продукции. Роль бактериологии в этом направлении ведущая.

Союзная санитарная инспекция в своей практической работе нуждается в объективных показателях. Эти данные должна дать санитарно-бактериологическая лаборатория.

Далее следует отметить задание XVI съезда советов: «провести в 1935 г. по городам и населенным пунктам проверку водоснабжения, канализационных и санитарно-бытовых сооружений, принимая меры для коренного улучшения санитарного состояния этих пунктов». Совершенно очевидно, что в выполнении этого задания бактериологи должны участвовать возможно шире и глубже.

Перед санитарной организацией стоят следующие задачи, требующие неперемennого участия бактериологов: 1) научно-исследовательская работа по установлению границ зоны санитарной охраны источников водоснабжения; 2) изучение водисточников в целях установления мест забора воды; 3) изыскание источников для сельского водоснабжения; 4) контроль водоочистительных сооружений; 5) изучение почвы свалок, полей орошения, кладбищ и т. п.; 6) изучение загрязнения воздуха населенных мест, зданий и т. п., 7) контроль вентиляционных установок и многое другое.

Помимо общественных мероприятий необходимо обратить особое внимание на вопросы личной гигиены. В этом отношении санитарная бактериология может дать много важных указаний (исследование рук и пр.).

Весьма важной задачей, стоящей перед санитарной бактериологией, является выработка бактериологических норм в разных областях санитарии и стандартизация и унификация методов санитарно-гигиенических исследований.

Из научных проблем, стоящих перед санитарной бактериологией, необходимо отметить: 1) проработку вопросов этиологии пищевых отравлений; 2) установление роли симбиозов (в широком смысле этого слова) в сохранении жизнеспособности патогенных бактерий в различных субстратах; 3) изучение процессов самоочищения воды и почвы.

Приведенные задачи представляют лишь ничтожную часть заданий, стоящих перед бактериологами в связи с широкими оздоровительными мероприятиями.

Обширность задач делает возможным их разрешение лишь при широкой совместной работе всей сети санитарно-бактериологических лабораторий и санитарной организации.

К сожалению, до последнего времени деятельность санитарно-бактериологических лабораторий недостаточно широко развевывалась в этом направлении.

Причинами этого в основном являются: а) отсутствие солидного, авторитетного методического и научно-организационного центра; б) отсутствие достаточно проработанных планов деятельности в указанном направлении и сконцентрированных методических указаний по выполнению тех или иных санитарно-бактериологических анализов; в) загрузка лабораторий клиническими анализами; только полное освобождение лабораторий или их отделов, ведущих санитарно-бактериологические анализы, от клинической работы позволит в должной мере наладить их основную работу.

Я поставил себе задачей по мере сил и возможностей восполнить пробел в советской медицинской литературе и составить книгу, в которой были бы сконцентрированы по возможности все сведения, необходимые для практической работы в области санитарной бактериологии.

Ввиду обширности предмета и ограниченности размеров книги последняя не претендует на исчерпывающую полноту изложения. В частности все методические приемы и сведения из общей медицинской бактериологии не вошли в книгу. В случае надобности надлежит обращаться к соответствующим руководствам по бактериологии: Златогоров, Учение о микроорганизмах (несколько устарело); Розен, Практическое руководство по бактериологической технике, 1931 г. (последнее руководство ценно тем, что в нем приводятся почти все новые рецепты и методы); Bergey, Determinative Bacteriology, 1934 г. (определитель микробов).

В настоящем 3-м издании сделан ряд исправлений и добавлений (в частности учтены указания ряда товарищей, сделанные в печати и лично путем писем и бесед).

Главным образом дополнения сделаны в разделе санитарной бактериологии пищевых продуктов. В частности заново проработано изложение современного состояния проблемы пищевых заболеваний токсико-инфекционного характера («Пищевые отравления»).

В заключение я прошу товарищей указать мне на пробелы и недочеты, которые они обнаружат в этой книге.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие . . . . .	3
Глава I. Воздух . . . . .	9
Обычная бактериальная флора воздуха . . . . .	9
Патогенные бактерии в воздухе . . . . .	12
Патогенные микробы в пыли . . . . .	16
Задачи бактериологического исследования воздуха и оценка его результатов . . . . .	17
Методика бактериологического исследования воздуха . . . . .	18
Методика бактериологического исследования пыли . . . . .	24
Глава II. Бактериологическое исследование предметов обстановки, инвентаря и обихода (мебели, одежды, белья, посуды и пр.) . . . . .	25
Бактериологическое загрязнение предметов обстановки и обихода . . . . .	25
Задачи бактериологического исследования предметов обихода . . . . .	31
Методика бактериологического исследования предметов обихода . . . . .	31
Глава III. Краткие сведения о домовом грибе . . . . .	36
<i>Merulius destruens</i> . . . . .	37
<i>Polyporus variegatus</i> . . . . .	38
Методика исследования . . . . .	38
Санитарное значение домового гриба . . . . .	39
Глава IV. Почва . . . . .	39
Нормальная бактериальная флора почвы . . . . .	39
Патогенные микроорганизмы в почве . . . . .	48
Показатели фекального загрязнения почвы . . . . .	54
Задачи и оценка результатов бактериологического анализа . . . . .	54
Методика бактериологического исследования почвы . . . . .	56
Глава V. Вода . . . . .	73
Бактериальная флора воды . . . . .	73
Задачи бактериологического исследования воды . . . . .	77
Методика бактериологического исследования . . . . .	77
Нахождение в воде патогенных микроорганизмов . . . . .	106
Краткие данные о биологическом анализе воды . . . . .	114
Оценка результатов бактериологического исследования воды . . . . .	118
Исследование льда . . . . .	122
Исследование воды плавательных бассейнов . . . . .	122
Исследование сточных вод . . . . .	124
Об организации обследования водоснабжения . . . . .	126
Приложение . . . . .	127
Глава VI. Молоко . . . . .	133
Источники и условия бактериального загрязнения и количество микробов в молоке . . . . .	133
Бактериальная флора молока в качественном отношении . . . . .	138
Задачи бактериологического исследования молока . . . . .	144
Методика бактериологического исследования молока . . . . .	145
Оценка результатов бактериологического исследования молока . . . . .	162
Пастеризация . . . . .	165

Бактериологическое исследование молочных продуктов . . . . .	177
Исследование женского молока . . . . .	189
Глава VII. Пищевые токсикоинфекции . . . . .	189
Глава VIII. Бактериология группы <i>coli-typhus</i> . . . . .	197
Глава IX. Мясо, мясные продукты и консервы . . . . .	209
Бактерийная флора мяса . . . . .	209
Задачи бактериологического исследования мяса . . . . .	219
Техника бактериологического исследования мяса . . . . .	220
Глава X. Различные пищевые продукты . . . . .	242
Яйца . . . . .	242
Овощи и фрукты. . . . .	243
Напитки. . . . .	244
Хлеб и мучные продукты . . . . .	245
Глава XI. Стандартизация дезинфекционных средств и бактериологический контроль дезинфе- кции. . . . .	247
Действие дезинфицирующих агентов на микробов . . . . .	247
Выбор культур для контроля дезинфекции . . . . .	251
Приготовление тест-объектов для определения стойкости микробов и контроля дезинфекции . . . . .	253
Укупорка, хранение и контроль годности тест-объектов. . . . .	259
Определение карболового коэффициента по Rideal-Walker. . . . .	266
Тест-объекты для камерной и жилищной дезинфекции и их приме- нение . . . . .	272
Испытание тест-объектов после воздействия дезинфицирующих аген- тов . . . . .	274
Глава XII. Бактериологический способ дератиза- ции . . . . .	275
Сущность, степень и успешность безопасности метода . . . . .	275
Методика проведения дератизации бактериологическим методом . . .	277
Глава XIII. Краткие сведения об исследовании на бациллоношение. . . . .	281
Введение . . . . .	281
Обследование на носительство при кишечных инфекциях. . . . .	283
Обследование на носительство палочек дифтерии . . . . .	287
Обследование на носительство при цереброспинальном менингите . .	290
Обследование на носительство при скарлатине . . . . .	291
Исследование рук на <i>B. coli</i> . . . . .	292
Глава XIV. Краткие сведения по профилактиче- ской вакцинации . . . . .	293
Введение . . . . .	293
Подкожная вакцинация против холеры, тифа и паратифов . . . . .	295
Вакцинация <i>per os</i> против дизентерии, тифа, паратифов и холеры . . .	298
Диагностическая проба Schick и активная иммунизация против дифтерии . . . . .	299
Активная иммунизация против скарлатины и проба Dick. . . . .	303
Одновременная иммунизация против скарлатины и дифтерии . . . .	314
Вакцинация против цереброспинального менингита . . . . .	314
Вакцинация против эпидемической инфлюэнцы . . . . .	315
Вакцинация по Calmett против туберкулеза. . . . .	315
Оспопрививание и антирабические прививки . . . . .	316
Приложения: таблицы . . . . .	317
Литература . . . . .	430

## ГЛАВА ПЕРВАЯ

### ВОЗДУХ

#### ОБЫЧНАЯ БАКТЕРИЙНАЯ ФЛОРА ВОЗДУХА

Сам по себе воздух не представляет среды, благоприятной для развития микроорганизмов. Поэтому вряд ли приходится говорить о нормальной и ненормальной флоре, скорее следует говорить о сапрофитной и патогенной флоре. Огромное большинство микроорганизмов, попадающих в воздух с пылью, поднимающейся с почвы, очень скоро погибает. Причинами быстрой гибели микробов в воздухе являются: 1) высыхание, 2) действие солнечного света, 3) отсутствие питательных веществ.

Источником микроорганизмов воздуха является главным образом пыль, поднимаемая ветром с поверхности земли, и в некоторых случаях капельки жидкости, загрязненные теми или иными микробами.

Количество микробов, содержащихся в единице объема воздуха, подвержено значительным колебаниям. Больше всего микробов находится в закрытых жилых помещениях. Открытый воздух содержит значительно меньшее количество их. Большая чистота открытого воздуха обуславливается, исключая влияние солнечного света, разбавлением загрязненной пыли огромными массами почти стерильного воздуха верхних слоев атмосферы, причем благодаря постоянно происходящим движениям токов воздуха происходит энергичное перемешивание. В воздухе жилых помещений почти отсутствует действие солнечного света, а поднимающаяся пыль остается в ограниченном пространстве. Еще более увеличивается количество микробов воздуха жилых помещений при сильном загрязнении последних, неправильной уборке их (сухое подметание) и ненормально сильных токах воздуха, поддерживающих во взвешенном состоянии даже крупные частицы пыли.

Воздух открытых мест также далеко не везде содержит одинаковое количество микробов. Воздух верхних слоев атмосферы почти стерилен; непосредственно над поверхностью земли он более всего загрязнен, так как содержит больше всего пыли. Почти стерильным представляется воздух над океаном, над снежными равнинами арктических областей и высоких гор. Воздух лесов, полей, садов и парков чище уличного воздуха городов. Время года также влияет на количество микробов в воздухе. Больше всего их летом и меньше — зимой.

В воздухе плохо проветриваемых жилых помещений, наоборот, большее число микробов обнаруживается зимой. Разница может быть значительной — в 5 и более раз.

По Микелю в парке Montsouris в Париже на 1 м<sup>3</sup> воздуха обнаружено:

	Бактерий	Плесеней
Зимой . . . . .	170	145
Весной . . . . .	295	195
Летом . . . . .	345	245
Осенью . . . . .	195	230

Нижеследующие данные дают представление о количестве микробов в городском воздухе.

В центре Парижа по Микелю на 1 м<sup>3</sup> воздуха обнаружено:

	Бактерий	Плесеней
Зимой . . . . .	4 305	1 345
Весной . . . . .	8 080	2 225
Летом . . . . .	9 845	2 500
Осенью . . . . .	5 665	2 185

т. е. в 10—30 раз больше, чем в парке Montsouris.

Дождь очищает воздух от микробов. Количество микробов уменьшается также после продолжительной сухой ясной погоды благодаря стерилизирующему действию солнечных лучей не только на микрофлору воздуха, но и поверхностных слоев почвы, служащих источником пыли.

О загрязнении воздуха жилых помещений дает представление следующая таблица (по Горовиц-Власовой):

	Количество бактерий в 1 м <sup>3</sup>	Автор
Жилая комната в Париже . . . . .	4 650	Mignel
Больничная палата . . . . .	40 000	»
Жилая комната в Берлине . . . . .	6 460	Hesse
Школьная комната в Берлине до занятий . . . . .	2 000	»
То же во время занятий . . . . .	16 500	»
То же после занятий при выходе школьников . . . . .	35 000	»
Казарма в 4 час. утра . . . . .	41 000	Kiener u. Aldiber
То же в момент вставания солдат . . . . .	220 000	» » »
То же в час дня в отсутствии солдат . . . . .	32 000	» » »
Больничная палата до уборки . . . . .	11 500	Laveran
То же во время сухой уборки . . . . .	45 000	»

Количество бактерий в воздухе различных закрытых помещений зависит от степени движения находящихся в них людей (важно в школах и казармах), а в промышленных заведениях—от характера производства.

Содержание микроорганизмов в воздухе промышленных помещений (Гольден) (по Слоневскому):

	Содержание в м <sup>3</sup>		
	Бактерий	Плесеней	Всего
Швейная . . . . .	7 000	4 500	11 500
Портняжная . . . . .	10 000	2 000	12 000
Типографская . . . . .	4 700	1 400	6 200
Канатная . . . . .	317 000	10 000	327 000

Сравнение различных способов уборки помещений в школах по данным Слоневского: если взять за 100% количество бактерий в на-

чале урока при обычном способе уборки, то получим следующие данные:

	В начале урока (в процентах)	В конце урока
Обычный способ уборки . . . . .	100	69,2
Смазывание минеральным маслом 1 раз в неделю . . . . .	39,8	20
То же 2 раза в неделю . . . . .	144	64,3
Смазывание мастикой . . . . .	87,6	18

Приведенные данные и соображения показывают, что содержание в воздухе того или иного количества бактерий до известной степени свидетельствует о степени его загрязнения, а следовательно и о степени возможности воздушной инфекции.

Такова количественная сторона флоры воздуха; что же касается качественной, то в воздухе нет каких-либо специфических видов; в нем могут быть обнаружены все виды, попавшие туда из почвы, а разнообразие и обилие микробов почвы общеизвестно.

Но все же среди видов бактерий, встречаемых в воздухе, преобладают пигментные виды; видимо они более резистентны в отношении влияния высыхания и ультрафиолетовых лучей солнца. Еще более резистентны некоторые плесени и дрожжи, по крайней мере их находят в преобладающем количестве в высоких слоях атмосферы и над океаном.

Экспериментальные исследования показали, что резистентность некоторых микроорганизмов по отношению к ультрафиолетовым лучам так велика, что для них путешествие через мировое пространство (вопрос о переносе жизни с планеты на планету) в этом отношении препятствий не встречает (Надсон).

По Горовиц-Власовой в воздухе находятся сотни видов различных сапрофитов. Из них главные:

#### Кокки без пигмента

- M. candidans* (Flügge)
- M. candidus* (Cohn)
- M. rossetaceus* (Zimmermann)

#### Кокки с розовым пигментом

- M. roseus* (Eisenberg)
- M. subcarneus* (Kern)
- M. cinnabareus* (Flügge)

#### Кокки с красным пигментом. Сарцины

- S. lutea*
- S. aurantiaca*
- S. alba*
- S. rosea*

#### Палочки спороносные

- B. subtilis*
- B. mesentericus vulgatus*
- B. megaterium* de Bary
- B. aerophilus* Liborius
- B. mycoides*
- B. cereus* Frankland

#### Кокки с желтым пигментом

- M. citreus conglomeratus*
- M. chryseus* (Frankland)
- M. flavus liquefaciens* (Flügge)
- B. bipolaris*
- B. cursor*
- B. loxosus*

#### Палочки пигментные

- B. prodigiosus*
- B. aureus*
- B. aureoscens*
- B. citreus*
- B. chlorinus*
- B. luteolus*

#### Дрожжи

- Torula alba*
- Torula rosea*

#### Плесени<sup>1</sup>

- Penicillium* (чаще др. плесеней)
- Aspergillus*
- Mucor*

<sup>1</sup> Определение вида плесеней можно производить при помощи «Определителя грибов» Ячевского.

## ПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ В ВОЗДУХЕ

Кроме большого количества сапрофитов в воздухе закрытых помещений могут находиться и патогенные микроорганизмы. Источником их являются зараженная пыль и капельки слюны и слизи из рта и бронхов, содержащие те или иные патогенные бактерии (от больных и носителей). В редких случаях источником их может быть какая-либо заразная жидкость, подвергающаяся разбрызгиванию.

В открытом воздухе теоретически патогенные микробы могут сохраняться, но практически обнаружение их еще никому не удалось. Исключением является находка Gordon, выделившего из воздуха центра Лондона *Streptococcus brevis*, но патогенность этого вида сомнительна.

Следует отметить, что речь идет об обнаружении микробов непосредственно в толще воздуха, а не в пыли с поверхности земли.

Причины отсутствия патогенных микробов в открытом воздухе те же, что были указаны как факторы, обуславливающие вообще меньшее количество микробов в воздухе открытых мест по сравнению с закрытыми помещениями: действие солнечного света, высушивание, сильное разбавление и постоянное перемешивание.

Вообще говоря, заражение на открытом воздухе частицами пыли с патогенными микробами очень трудно. Сила втягивания воздуха при вдыхании почти всегда меньше силы тока воздуха. Поэтому встречаемые на открытом воздухе частицы зараженной пыли в силу своей относительной тяжести проносятся с током воздуха мимо ноздрей или рта человека (Cotschlich).

Вопрос о наличии в воздухе тех или иных патогенных микробов и возможности инфицирования ими человека или животного стоит в тесной связи с вопросами о пылевой и капельной инфекции, ибо в свободном состоянии ни патогенные ни сапрофитные микробы обычно в воздухе не встречаются. Большой же частью они фиксируются на маленьких частицах пыли или влаги или внутри них; те и другие, находясь в воздухе, в силу своей легкости во взвешенном состоянии и обуславливают загрязнение воздуха микробами.

### Пылевая инфекция

Не всякий микроорганизм, попавший вместе с пылинкой в воздух, может служить источником заражения. Необходимым условием для этого является достаточная стойкость микроорганизма к высушиванию, которому он подвергается, носясь с пылинкой по воздуху.

Абсолютная стойкость к высушиванию—не всегда обязательное условие, так как часто влажная частица пыли, подсыхая, образует на поверхности корку, не допускающую дальнейшего высушивания. Таким образом в глубине частицы сохраняется влага, и даже микробы, плохо переносящие высушивание, могут долго оставаться живыми. Большое значение имеет и другое условие. Сама пылинка должна обладать известной летучестью; иначе она, взлетев на воздух, упадет вблизи.

Опасность заражения становится только тогда большой, когда частицы пыли долго носятся взвешенными в воздухе.



Эксперименты показали, что возбудители холеры, чумы, гонореи, инфлюенцы, менингита и коклюша (Neisser, Williams) не могут сохраняться живыми в высушенном состоянии на частицах пыли, лишенных влаги.

С другой стороны, эксперименты того же Neisser показали, что синегнойная палочка, гноеродные кокки, споры сибирской язвы, туберкулезная палочка (а по данным Schwarz и бациллы столбняка) могут долго находиться на взвешенных в воздухе частицах пыли и далеко разноситься даже при скорости токов воздуха не более 1 см в секунду.

Для того чтобы соответствующий микроб поднялся на высоту 80 см, по Neisser необходима следующая скорость токов воздуха (в миллиметрах в секунду):

Для синегнойной палочки . . . . .	4,1
» спор сибирской язвы . . . . .	1,8
» гноеродного золотистого стафилококка . . . . .	3,0
» туберкулезной палочки . . . . .	3,0

Такие скорости движения воздуха всегда имеются даже в плотно закрытых помещениях (благодаря процессам естественной вентиляции). Поэтому возможность заражения через воздух этими микробами очень велика. Все упомянутые микробы к тому же хорошо переносят высушивание.

Тифозные палочки уже требуют для поднятия на высоту в 80 см скорости в 1,7 см, а дифтерийная палочка—даже 19,7 в секунду.

Так как такой силы токи воздуха не всегда имеют место в закрытом помещении (где они обычно не больше 1 см), то естественно, что эти два микроорганизма несмотря на способность противостоять высушиванию обычно через воздух не передаются.

*B. typhi* иногда может подниматься на воздух, а *B. diphteriae*—почти никогда.

Каковы же условия попадания зараженной пыли в воздух? Источником зараженной пыли являются выделения больных, засыхающие на полу, одежде, предметах обстановки и т. д. Если поверхность, где идет высыхание заразного материала, гладкая, то при неполном подсыхании для отрыва частиц материала вместе с патогенными микроорганизмами требуется ток воздуха скоростью в 60 м в секунду, при вполне же высушенном состоянии—не менее 5 м (Nägeli, Buchner, Hamburger, Flügge, Honseil). С шероховатой поверхности (например ковра) частицы высушенного заразного материала могут отрываться, если они были предварительно полуотделены механической сухой чисткой, при скорости воздуха в 1,3 м в секунду.

Кроме высохших выделений, непосредственно попавших на место подсыхания, источником зараженной пыли могут быть опустившиеся из воздуха мельчайшие капельки с заразным материалом (см. «Капельная инфекция»). После подсыхания они не отрываются даже при скорости 13 м.

Таким образом в естественных условиях засохший заразный материал не попадает в воздух, но при растирании его ногами, выбивании ковров и пр. он взлетает на воздух. 90% пыли уже через 5 минут оседает обратно, но 10% держится от 1½ до 4 часов во взвешенном состоянии.

Значение вентиляции для предупреждения пылевой инфекции невелико, так как крупные частицы не удаляются ею вовсе, а мельчайшие лишь частично.

Резюмируя вышесказанное, можно сказать, что в воздухе мы можем ожидать присутствия на сухих пылевых частицах следующих патогенных микроорганизмов: *B. tuberculosis*, *B. anthracis*, *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *B. pyocyaneus*, с меньшей долей вероятности *B. typhi* и еще реже *B. diphteriae*.

Horwood (Journ. of Bact., 1931) исследовал 41 образец домашней пыли и получил следующие результаты:

Общее число выращенных колоний через 5 дней при 20° при расчете на 1 г 20 000—32 000 000, причем 62% содержали >1 000 000 и 21% содержал >5 000 000.

Через 2 дня выращивания при 37° те же образцы дали общее количество 26 000—45 000 000, причем 50% > 5 000 000.

Далее исследование на споры показало присутствие более 50 000 спор на 1 г пыли в 51,1% проб.

В 44% обнаружены гемолитические стрептококки. При заражении мышей пылью из 18 погибло 7, причем туберкулез исключался.

### Капельная инфекция

Помимо пылевой инфекции мы можем иметь дело с капельной. Патогенные микробы попадают в воздух не только на сухих частицах пыли, но и в капелях или пузырьках жидкости. Хорошо защищенные в таких капелях от высыхания, микробы долго остаются жизнеспособными.

При таких условиях получают возможность заражать через воздух и такие микробы, которые не переносят высыхания.

Ток воздуха скоростью в 4 м может отрывать мельчайшие капельки с поверхности зараженной жидкости или с платья, смоченного жидкостью, содержащей патогенные микроорганизмы.

Но такие токи возможны лишь на открытом воздухе. Поэтому в закрытом помещении источником образования взвешенных в воздухе капелек является главным образом говорящий и тем более кашляющий и чихающий человек и только в редких случаях—переливание из сосуда в сосуд заразной жидкости или случайное разбрызгивание заразной жидкости (например ванна заразного больного).

При этом мельчайшие капельки слюны, мокроты и слизи сильным током воздуха отрываются от слизистой рта и бронхов, взлетают на воздух и в зависимости от своей величины и веса пролетают то или иное расстояние.

При экспериментальной постановке опытов (Лященко, Esmarch и др.), когда рот ополаскивается водной взвесью микроорганизмов, образуются очень мелкие и чрезвычайно летучие капельки. Область их распространения в закрытом помещении—9 м впереди и до 2 м позади опытного лица. На открытом воздухе капельки летят вперед на расстоянии до 600 м (Hutchinson, Kirstein). Капельки могут находиться в воздухе во взвешенном состоянии до 5—6 часов.

На практике область распространения и время пребывания капелек в воздухе значительно меньше, так как капельки из слизи, ча-

стицы мокроты и пр. значительно больше и тяжелее водных. По Лященко мокрота пневмоника вообще не распыляется или образует грубые капельки, которые не транспортируются токами воздуха скоростью до 10 мм в секунду.

Обычно срок пребывания капелек мокроты во взвешенном состоянии  $1\frac{1}{2}$ —1 час.

Количество капелек и скорость их полета зависят от скорости выдыхаемого воздуха. При обычном спокойном дыхании выдыхаемый воздух почти стерилен. При произнесении различных звуков скорость тока воздуха может достигнуть 2—16 м в секунду. Конечно такой силы ток воздуха отрывает капельки от слизистой рта. При чихании, кашле и шопоте (Kroniger) дальность полета капель увеличивается.

Различают ротовые и бронхиальные капельки. В первых могут содержаться возбудители оспы, кори, ангины, дифтерии, лепры (Gotschlich, Schöffner, Teague и др.) и брюшного тифа (Синай и др.). Во вторых—возбудители инфлюэнцы, коклюша, легочной чумы, пневмонии, туберкулеза (Meyer, Flügge, Löwenthal, Strong, Заболотный, Ziesche и др.).

Область распространения естественно образовавшихся бронхиальных капелек при кашле туберкулезного больного хорошо изучена Flügge, Лященко и многими другими. Капельки заражали свинку, расположенных на расстоянии не далее 0,5 м. Учитывая в 100 раз большую массу выдыхаемого человеком воздуха, приходится сделать вывод о соответствующем увеличении опасной зоны для человека: Bartenstein определил эту зону так: 1,5 м впереди и 0,3 м позади.

Величина опасной зоны в значительной степени зависит от величины капелек или частиц слизи и т. п. Neumann установил, что самые мелкие капельки от туберкулезных больных имеют диаметр в 20—30  $\mu$  и обычно содержат целый конгломерат клеток и бацилл, поэтому область их распространения и сроки нахождения в воздухе незначительны. Частицы же в 100  $\mu$  и больше диаметром падают на пол уже через 5 секунд. Более мелкие частицы находятся в воздухе до 30 минут.

Естественно, что при таких условиях (изученных в естественной обстановке) многим удавалось выделить из воздуха туберкулезные палочки (Neumann, Лященко). Niprke установил, что выделение мелких частиц (меньше 100  $\mu$  диаметром), наиболее опасных в смысле передачи заразы, наблюдается лишь у 12—25% кашляющих или у 5% всех туберкулезных. Поэтому обычно опасно лишь длительное пребывание здоровых лиц с больными в одном и том же помещении.

Вопрос о том, какая инфекция—пылевая или капельная—имеет большее значение для заражения туберкулезом, еще окончательно не разрешен. С одной стороны, Flügge и его школа—Beninde, Neumann, Möller и др.—считают, что частицы пыли труднее проникают в глубокие отделы бронхов и легких (не более 4%), чем капельки (33%); с другой стороны, В. Lange доказывает обратное на основании ряда экспериментов, показывающих небольшое значение капельной инфекции. Видимо на практике и тот и другой способ инфекции играют достаточно значительную роль.

Преобладание капельной инфекции имеет место в случаях (исключая вышеуказанные инфекции, вообще через пыль не передающиеся) заражения гноеродными микробами в операционных, главным образом от капелек изо рта оператора и персонала, разговаривающих во время операции; при некоторых инфекциях (оспа) в первой стадии болезни преобладает возможность передачи заразы капельками, а в конце (подсыхание корок и т. п.) — пылью.

Передача *V. diphtheriae* капельками вообще сомнительна. Капельная инфекция чаще является причиной заражения, но после выздоровления больного *virus* остается в природе в виде пыли, которая служит для дальнейшего распространения инфекции.

Относительно наблюдавшихся Schöffler разбрызгиваний капелек лепрозным больным Götschlich выражает сомнение в жизнеспособности и вирулентности содержащихся в них бацил.

Возможность передачи капельками только что упомянутых микробов доказана или экспериментально или на основании практических находок. Но теоретически можно допустить возможность переноса с мельчайшими капельками вообще всех патогенных микроорганизмов. Между ними наиболее возможна передача возбудителей, кроме уже упомянутых, туляремии, тифа, холеры, мальтийской лихорадки и пр. В действительности исключением должны явиться микроорганизмы, вообще не выделяющиеся наружу из больного организма (*protozoa*), или же такие, заражение которыми требует особых условий.

### Практические находки патогенных микроорганизмов в воздухе

Вне экспериментальных условий в воздухе были найдены следующие патогенные микроорганизмы:

1. *Staphylococcus pyogenes* (Ullmann, Clevesymmes, Ruini, Haegler и многие другие).

2. *Streptococcus pyogenes* (Emmerich, Ucke, Haegler и др.).

3. *Streptococcus scarlatinae* (?) (Friedemann и Deicher) был обнаружен в воздухе больничных палат в огромном количестве. Чтобы избежать поддержания у выздоравливающих бациллоносительства постоянной инфекцией из воздуха, авторы переводят выздоравливающих в отдельные палаты с чистым воздухом.

4. *B. pyogenes foetidus* (Concornotti).

5. *Diplococcus pneumoniae* (Netter, Concornotti и др.).

6. *B. tuberculosis* (Heymann, Лященко, Rembold и др.) — для обнаружения были пропущены через поглощающую жидкость сотни литров воздуха.

7. *B. typhi flavum* (Seydel).

Из относительно патогенных обнаружены:

8. *B. coli* (Winslow и Kligber и многие другие).

9. *B. pseudodiphtheriae* (Harrys и Wade) и др.

### ПАТОГЕННЫЕ МИКРОБЫ В ПЫЛИ

Нахождение в пыли тех или иных патогенных микробов не будет еще говорить о степени опасности заражения через воздух, так как

патогенные микробы могут содержаться лишь в наиболее крупных частицах пыли, почти не взлетающих на воздух. Но вообще результаты исследования пыли могут дать представление о загрязнении воздуха.

Из патогенных микробов в пыли (кроме упомянутых как находки в воздухе) были находимы.

1. *Proteus vulgaris* (Cantu).

2. Сибиреязвенные споры (Cornet).

3. *B. pneumoniae* Friedländer (Uffelmann, Emmerich).

4. Возбудитель болезни Heine-Medin (Neustädter).

5. *B. tuberculosis* [был обнаруживаем в пыли много раз (Krüger, Kirchner, Wagner, Kustermann и многие другие)].

О частоте присутствия *B. tuberculosis* в пыли дают представление следующие данные. Winslow и Kliefer нашли туберкулезные палочки в 5% проб пыли, взятых в помещениях, свободных от больных, и в 28—30% проб, взятых в помещениях, где находились туберкулезные больные. Максимович обнаружил *B. tuberculosis* в 43% проб пыли больниц. Götschlich в 90 пробах летучей пыли из помещений, защищенных от непосредственного заражения, ни разу не нашел туберкулезных палочек. Köhlisch при заражении свинки пылью из туберкулезного помещения ни разу не получил заболевания при ингаляционном способе, но имел положительный эффект в 15—18% при внутрибрюшинном введении.

Эти и другие данные заставляют признать Flügge, что л е т у ч а я п ы л ь, зараженная туберкулезными палочками, встречается в помещениях туберкулезных сравнительно редко.

6. *B. tetanus* был также находим в пыли неоднократно (Hespe, Emmerich и Heinzelmann).

Из других микробов в пыли были находимы:

Анаэробы газовой гангрены (Rulmann и Utpadel), *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *B. coli* (Winslow и Klinger), *Pneumococcus* Fränkel [в пыли больничных палат (Netter)], *B. typhi* (Соловьев, Carnot), *B. ruosyanus* (Соловьев и др.), *B. diphteriae*—редко (Wright и Emerson и др.).

Естественно, что в пыли флора может быть очень разнообразной и содержать всех микробов поверхности почвы, выдерживающих высушивание.

## ЗАДАЧИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДУХА И ОЦЕНКА ЕГО РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании воздуха обычно определяется общее количество бактерий на 1 м<sup>3</sup>.

Хотя норм содержания бактерий в воздухе в тех или иных помещениях не имеется, тем не менее такого рода исследования имеют смысл.

Мы должны стремиться сделать воздух наших жилищ соответствующим по чистоте воздуху над полями, парками и т. п. Следовательно мы уже имеем ориентировочные данные для оценки содержания бактерий в воздухе.

Содержание более 500—1 000 бактерий в 1 м<sup>3</sup> уже является показателем загрязнения воздуха. Естественно, что не всегда принятие

мер к уничтожению пыли в помещениях, даже при хорошей вентиляции, позволит нам приблизить содержание бактерий в воздухе жилых помещений к таковому над парками, но степень успеха принятых мер анализ может установить. Ценный материал может также дать сравнение содержания бактерий в воздухе жилых помещений и улиц в разное время года и при разных условиях.

Далее систематическое определение бактерий в воздухе может осуществить контроль за вентиляцией, способом уборки и т. д.

При определении общего числа бактерий Дьяконов рекомендует учитывать отдельные группы бактерий: 1) пигментообразователей, 2) разжижающих желатину, 3) плесеней, 4) образующих сероводород (последние определяются посевом в агар с уксуснокислым свинцом—колонии микробов, образующие  $H_2S$ , чернеют) и т. д. Такой учет может дать представление об источниках загрязнения воздуха.

Наконец при наличии специальных заданий мы исследуем воздух на содержание патогенных микробов, причем одновременно с исследованием воздуха как такового рекомендуется производить и исследование собранной в помещении пыли.

Для определения наличия капельной инфекции производят исследование размещением открытых чашек Петри с разными (в зависимости от рода искомого микроорганизма) питательными средами. Чашки расставляются на разном расстоянии и высоте от источника, подозреваемого в выделении зараженных капелек. Такое исследование в качестве контроля рекомендуется применять например в операционных и в перевязочных.

Нахождение патогенных бактерий в воздухе имеет абсолютное значение для оценки опасности его. Необнаружение же патогенных микробов имеет лишь относительную ценность, так как методы исследования не всегда дают надежные результаты.

## МЕТОДИКА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДУХА

### Метод осаждения Коха

Для ориентировочного исследования воздуха на содержание в нем бактерий употребляется метод Коха.

Метод заключается в следующем: чашки Петри с агаром или желатиной размещаются в различных пунктах исследуемого помещения и оставляются открытыми на 5—10 минут. Срок увеличивается до 30 минут и более при более чистом воздухе.

По прошествии намеченного срока чашки закрывают крышками и выдерживают при  $22^\circ$  в течение 5 дней, после чего производят подсчет колоний по обычным правилам. Ввиду своей чрезвычайной простоты способ этот очень хорош, но он дает лишь ориентировочное представление о степени загрязнения воздуха бактериями.

Омелянский считает, что по приблизительному подсчету на площадь в  $100\text{ см}^2$  за 5 минут осаждается столько микробов, сколько их содержится в 10 л воздуха. Для точного количественного учета метод этот не годится. Иногда при невозможности применять другой метод этот бывает полезным для получения сравнительных данных о чи-

стоте воздуха одного и того же помещения в разное время (школьные классы до и после занятий и т. п.).

## Определение количества бактерий в воздухе посевом

### П р и н ц и п м е т о д а

Для точного количественного учета бактерий на  $1 \text{ м}^3$  определенный объем воздуха пропускается через жидкую или порошкообразную среду.

Определение при помощи соответствующих посевов количества бактерий, задержанных употребленной средой, укажет на количество бактерий в пропущенном объеме воздуха. Сделав перерасчет, мы узнаем содержание микробов в  $1 \text{ м}^3$  воздуха.

### В з я т и е п р о б и п о с е в ы

Тяга, необходимая для просасывания воздуха через поглощающую среду, получается при помощи насасывающего насоса. В качестве таковых употребляются электрические насосы с мотором, электрические пылесосы, водоструйные насосы.

Моторные насосы затруднительны в пользовании из-за громоздкости и необходимости иметь специальную подводку тока. Пылесосы можно приключать к осветительной сети, и они являются вполне портативными. Обычные стеклянные водоструйные насосы (рис. 1), если только вблизи места взятия есть водопроводный кран, наиболее применимы по своей дешевизне и портативности, а получаемые при их помощи результаты вполне удовлетворительны.

При пользовании электрическими насосами наиболее подходящим по возможности применения в любом месте является пылесос.

Для учета пропущенного воздуха употребляют газометры или реометры. Лучшие результаты дают более прочные гидравлические газовые часы.

Газовые часы громоздки, поэтому при выездной работе рекомендуется пользоваться реометрами—приборами для определения скорости струи газа (подробности устройства и пользования—см. руководства по химическому анализу воздуха).

При бактериологическом исследовании воздуха в сущности можно обойтись без указанных сложных приборов, если пользоваться аспиратором.

Аспиратор одновременно дает тягу исследуемого воздуха и позволяет учитывать протекшее его количество. Лучше пользоваться двойным металлическим аспиратором. Устройство такого аспиратора (рис. 2) следующее: два железных сосуда *A* и *B* припаяны к железным ножкам (*c*) так, что один находится под другим (*A* выше *B*). Аппарат можно перевернуть и поставить обратно (*B* выше *A*).

Трубка *a* соединяет внутренность обоих сосудов. Кран ее позволяет регулировать приток воды из верхнего сосуда в нижний. Краны

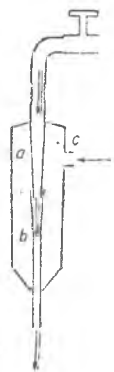


Рис. 1. Схема водоструйного насоса. Вода, попадая из трубки *a* в трубку *b*, засасывает вместе с собой воздух, благодаря чему получается тяга через трубку *c*.

*b* служат для выпуска воздуха из сосуда, находящегося в данный момент вниз, в который переливается вода. Кран *b* в верхнем сосуде закрыт.

Для пуска в ход аппарата в верхний сосуд наливают воду; отверстие его закрывают пробкой с трубкой, притягивающей воздух; последнюю соединяют с прибором для забора проб воздуха; отверстие нижнего сосуда закрывают глухой пробкой; открывают кран соединительной трубки *a*; кран *b* нижнего сосуда открывают, верхнего—закрывают. Вода, переливаясь из верхнего сосуда в нижний, тянет воздух через прибор. Когда вся вода перельется в нижний сосуд, верхний сосуд закрывают глухой пробкой, закрывают кран *b* нижнего сосуда и переворачивают прибор так, чтобы нижний сосуд очутился наверху и производят снова установку, как указано. Конец переливания узнается по прекращению прохождения пузырьков воздуха через абсорбирующую жидкость.

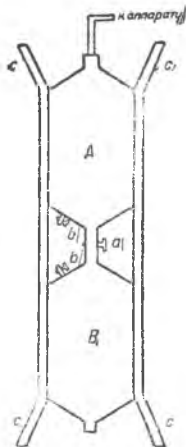


Рис. 2. Двойной металлический аспиратор.

Зная объем каждого и число опорожненных сосудов, вычисляют объем пропущенного воздуха.

Регулировка скорости тока воздуха производится при помощи крана трубки *a*.

В случае отсутствия аспиратора таковой можно сконструировать в любой лаборатории из стеклянных бутылей, применив принцип с и ф о н а (рис. 3).

В верхнюю бутыль до метки *a*, а в нижнюю до метки *b* наливают воды и устанавливают сифонное сообщение между ними, после чего закрывают винтовой зажим *c*. Короткую трубку верхней бутыли соединяют с прибором и открывают винтовой зажим.

Вода, переливаясь в нижнюю бутыль, дает тягу воздуха.

Когда вода дойдет до метки *b* верхней бутыли, объем пропущенного воздуха будет равен 10 л. Тогда закрывают винтовой зажим, разъединяют прибор для взятия пробы воздуха с короткой трубкой верхней бутыли, переставляют нижнюю бутыль наверх, а верхнюю вниз, соединяют прибор с короткой трубкой бутыли, ставшей верхней, открывают зажим и т. д.

Повторяя перестановку и количество раз, мы можем пропустить любое количество воздуха; регулировка скорости притока воздуха производится при помощи винтового зажима.

Существовавшие ранее специальные приборы для бактериологического исследования воздуха Hesse и Petri в настоящее время почти оставлены: а) прибор Hesse потому, что посев большого объема воздуха при его помощи крайне затруднителен и не дает точных результатов, ибо не все частички пыли осядут на желатине; б) прибор Petri

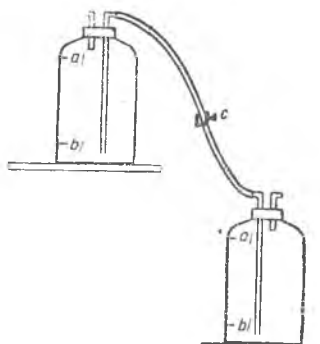


Рис. 3. Аспиратор из двух стеклянных бутылей (между *a* и *b*—объем 10 л).



оставлен по той же причине и еще потому, что работа с насосом создает излишние посторонние токи воздуха.

Итак, мы тем или иным способом пропускаем определенный объем воздуха через абсорбирующую жидкость или фильтрующий слой порошка.

Каковы же должны быть скорость и объем пропущенного воздуха?

Скорость лучше всего брать соответствующую скорости дыхания человека при средней работе, т.е. 500—800 л в час.

Для обычных исследований воздуха жилых помещений можно ограничиться пропусканием 100 л. При очень чистом воздухе следует пропускать большие количества, следовательно забор пробы воды должен продолжаться 8—12 минут при скорости 12—8 л в минуту. Сосуды для абсорбирования или фильтрации, равно как и задерживающие бактерий вещества, употребляются различные. Приведем главные способы.

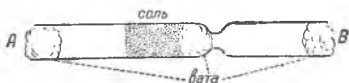


Рис. 4. Трубка Miquel.

Способ Miquel (пропускание через сернокислый натрий). Сернокислый натрий нагревают до 200° (при этом соль сперва расплавляется от выделяющейся конденсационной воды и затем подсыхает), измельчают в ступке и просеивают через сито. Соль всыпается в стеклянную трубку с перехватом (рис. 4). Под перехватом помещается вата, затем соль. Трубку с обоих концов закрывают ватными пробками и стерилизуют сухим жаром.

Для взятия пробы конец *B* соединяют с аспиратором и пропускают нужное количество литров воздуха (не более 100); ватная пробка на конце *A* при этом снимается. Затем растворяют соль в 10 см<sup>3</sup> стерильной водопроводной воды и засевают в расплавленный агар (42°) или желатину (37°), которые разливаются затем на чашки. Через 5 дней производится подсчет колоний, как и при исследовании воды.

Достоинством метода является легкость транспортировки забранных проб без увеличения числа бактерий. Кроме сернокислого натрия употребляют сахар и другие порошки.

Употребление нерастворимых порошков—песок (Petri), битое стекло и пр.—не рекомендуется, так как частицы их мешают счету колоний на засеянных чашках Петри.

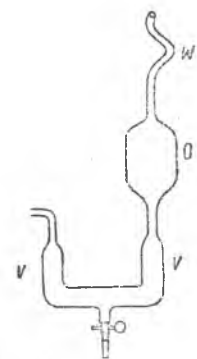


Рис. 5. Прибор Пальмера. *V*—колена, *O*—расширение, *W*—извилистый предохранитель. Воздух поступает в жидкость (30—40 см<sup>3</sup>), находящуюся в коленах *V*, и разбрызгивается в расширении *O*, откуда капли воды стекают обратно в колено *V*.

Лучшее поглощение происходит при применении в качестве абсорбентов жидкостей. Поглощение бактерий жидкостью происходит тем лучше, чем больше она приходит с ними в тесное перемешивание. Наилучшим сосудом для этого считается стеклянный прибор Пальмера (рис. 5).

В последнее время для целей специально бактериологического анализа Дьяконовым (по идее Бруевича) предложено следующее приспособление, дающее еще более хорошие результаты, для переме-

пивания воздуха с жидкостью. Воздух поступает в стерильный цилиндр, в который налито 30—50 см<sup>3</sup> жидкости через трубку, доходящую до дна (рис. 6). На дно цилиндра насыпают стеклянные бусы. На поверхность можно налить тонкий слой масла для предупреждения образования пены (Straus).

В качестве абсорбирующих жидкостей можно употреблять воду или бульон. После пропускания через нее определенного объема воздуха берут определенное количество ее и засевают на ряд чашек, смешивая с агаром (42°) или желатиной (37°). Определяют выросшее число колоний и пересчитывают на 1 м<sup>3</sup> воздуха.

**Пример вычисления.** Пропущено 100 л воздуха через 50 см<sup>3</sup> воды. Засеяно три чашки по 5 см<sup>3</sup> воды каждая. Всего на всех чашках выросло 100 колоний. Если в 15 см<sup>3</sup> воды содержится 100 бактерий, то в 50 см<sup>3</sup> будет содержаться  $\frac{100 \cdot 50}{15} = 333$  бактерий.

Такое количество содержалось в 100 л воздуха, а в 1 см<sup>3</sup> (1 000 л) будет содержаться 3 330.

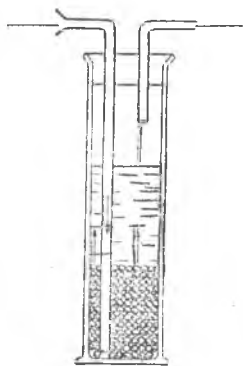
При незначительном содержании бактерий в воздухе рекомендуется в качестве абсорбента пользоваться не водой или бульоном, а расплавленной мясопептонной желатиной.

Тогда после процесса поглощения все количество желатины, находившееся в поглощающем сосуде, разливается на ряд чашек. В таком случае прибор стерилизуется отдельно, и перед опытом в него вливается стерильная расплавленная желатина, а во время опыта прибор помещается в теплую (30°) воду.

При посеве той или иной среды предварительно промывается приводящая трубка.

Здесь следует указать, что всякого рода сосуды, употребляемые для указанной цели, должны стерилизоваться с заткнутыми ватой отверстиями приводящей и отводящей трубок. При опыте пробка из приводящей трубки снимается, в выводящей—остается. Последняя может служить контролем полноты поглощения.

Рис. 6. Цилиндр с бусами для абсорбции микробов из воздуха.



Для этого после опыта ее бросают в пробирку с расплавленной желатиной, разбалтывают, и желатину выливают на чашку Петри. Если желатина остается стерильной или будет содержать единичные колонии, то поглощение может считаться удачным.

Далее для создания условий опыта, наиболее соответствующих человеческому дыханию, на засасывающий конец трубки прибора надевают (до стерилизации) небольшую воронку, завернутую бумагой, которая снимается при начале опыта.

Высота расположения засасывающей воронки должна соответствовать высоте стоящего, сидящего или лежащего человека (в зависимости от того, в каком положении обычно находятся люди в этом помещении). При расположении приборов следует засасывающую воронку располагать возможно дальше от аспиратора, чтобы манипуляции с ним не отразились на качестве проб воздуха.

Перед посевом следует энергично раздробить частицы пыли при помощи бус. В противном случае число колоний получится значи-

тельно меньше действительного числа микробов. Причина этому та же, что и при исследовании почвы. Несколько микробов, сидящих на одной пылинке, дадут лишь одну колонию и т. д. Полезно попробовать употреблять для анализа воздуха аппарат Whittles (стр. 41). Чашки выдерживают при 22° 5 дней, после чего приступают к подсчету.

По предложению Дьяконова при этом учитывают отдельно: 1) пигментообразователи (обычные для воздуха), 2) разжижающие желатину виды, 3) образователи газообразных продуктов распада (амиака, сероводорода), 4) плесени. 1, 2 и 4 узнаются по внешнему виду колоний, 3 определяются при помощи специальных сред. Некоторая сложность определения последних и возможность без существенного вреда для точности санитарной оценки воздуха отказаться от их определения позволяют нам не производить учета этих групп бактерий.

Название микроба	Питательная среда	Метод накопления	Примечание
1. Гемолитический стрептококк и стафилококк	Кровяной агар	Посев в сахарный бульон на 24 часа	О дифференцировке пневмококка и стрептококка см. Розен, Практическое руководство по бактериологической технике, стр. 208
2. Пневмококк	Кровяной и асцитический агар	То же и заражение мыши	
3. Анаэробы	Сахарный агар в анаэробных условиях	Посев прогретого и непрогретого материала в бульон с печенью (см. Иссл. почвы и заражение свинки)	
4. Палочка сибирской язвы <sup>1</sup>	Обыкновенный агар	Заражение животного	Шансы нахождения очень малы
5. Палочка пневмонии	—	Заражение мыши	
6. <i>B. typhi</i>	Endo	Желчь	
7. <i>V. cholerae</i> as.	Щелочной агар	Пентонная вода	Нахождение подозрительных колоний, выделение чистых культур и проба на вирулентность
8. <i>B. tuberculosis</i>	—	Заражение свинки	
9. <i>B. dysenteriae</i>	Сыворотка (Löffler) на чашках	—	

<sup>1</sup> См. также «Исследование почвы на палочки сибирской язвы».

## Определение патогенных микробов в воздухе

Обнаружение патогенных бактерий может производиться методом осаждения Косх (или методом открытых чашек). Для этого открытые чашки с соответствующими питательными средами размещают в разных пунктах помещения и оставляют на  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  часа. Затем чашки помещают в термостат при  $37^\circ$  и исследуют выросшие колонии обычным способом. Лучшие результаты дает метод пропускания больших объемов воздуха через какую-либо поглотительную жидкость, как это было только что описано для определения общего числа бактерий в воздухе. При этом надо пропускать большие объемы воздуха—до 500—800 л.

Далее абсорбирующая жидкость тщательно взбалтывается, центрифугируется, и осадок засеивается в соответствующие среды.

Частью осадка, если нужно, заражают животных.

Для выделения различных микробов употребляют среды и методы накопления, приведенные в таблице на стр. 23-

Для обнаружения *B. pestis*, *tularense*, *Brucella* следует заражать животных.

## МЕТОДИКА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПЫЛИ

Кроме исследования воздуха на присутствие патогенных микробов рекомендуется одновременно исследовать п ы л ь, собранную в данном помещении.

Пыль исследуемого помещения собирают сухим стерильным ватым тампоном во взвешенную небольшую чашку Петри.

Собранное количество взвешивается и тщательно разбалтывается в определенном количестве стерильного физиологического раствора. Как и при исследовании воздуха, полезно воспользоваться прибором Whittles для более совершенного раздробления частичек пыли.

Для определения общего количества микробов на 1 г пыли полученную взвесь пыли *per se* и разведенную в 100 раз сеют, смешивая определенное количество взвеси с расплавленными агаром или желатиной, выливают на чашки Петри и выращивают при  $22^\circ$  в течение 5 дней.

Дальнейшее исследование, как и при исследовании воздуха,— посевом абсорбирующей жидкости (стр. 22). Полученные результаты пересчитывают на 1 г пыли. Для исследования на патогенные микробы собранную пыль смачивают небольшим количеством воды. Полученная густая взвесь служит для заражения животных, посева в накопительные среды или засеивается на ряд чашек с различными питательными средами—в зависимости от того, какие бактерии определяются.

В общем исследование пыли в этом отношении не отличается от исследования воздуха (стр. 23). (Некоторые детали исследования см. «Исследование почвы».) Особенно важным является исследование на туберкулез. Собранную и смоченную небольшим количеством стерильного физиологического раствора пыль инципируют морской свинке. Полезно другую свинку заразить таким же материалом, но прогретым 10 минут при  $60^\circ$ .

## БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕДМЕТОВ ОБСТАНОВКИ, ИНВЕНТАРЯ И ОБИХОДА (МЕБЕЛИ, ОДЕЖДЫ, БЕЛЬЯ, ПОСУДА И ПР.)

### БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПРЕДМЕТОВ ОБСТАНОВКИ И ОБИХОДА

Различные предметы обстановки и обихода могут быть загрязнены патогенными бактериями, поэтому в соответствующих случаях бывает необходимо произвести их обследование.

Говорить о нормальной флоре здесь не приходится.

Мебель, ковры, занавесы, портьеры бывают загрязнены пылью—поэтому то, что сказано относительно пыли, имеет значение и при исследовании данных предметов.

Кроме того они могут быть загрязнены различными выделениями больных (частицами мокроты, слизи из зева, faeces, мочой и т. п.). Эти выделения могут высыхать и образовывать плотно пристающие корки. Далеко не весь этот материал после окончательного высыхания превращается в пыль. Большая часть его остается на месте и может быть передана здоровому человеку лишь при соприкосновении.

Следовательно здесь мы подходим к вопросу о контактной инфекции.

Заражение через пыль происходит двумя путями: пылевой и контактной инфекцией. Для некоторых случаев при заражении пылью контактная инфекция является преимущественной. Последнее относится к тем случаям, когда частицы пыли, содержащие заразное начало, настолько велики, что не взлетают при токах воздуха обычной для закрытых помещений силы.

При заражении через предметы обстановки можно заразиться, во-первых, через такую крупную пыль, во-вторых—от заразного материала, не превратившегося в пыль, и наконец—от обычной мелкой пыли, скопившейся на данном предмете. Следовательно при этом имеет место контактная инфекция.

Эпидемиологические наблюдения показывают, что описанный контактный способ заражения имеет место очень часто. Количество находок патогенных микробов на предметах обстановки и обихода сравнительно невелико, но это исключительно объясняется небольшим числом углубленных исследований.

На самом деле можно полагать, что наличие патогенных бактерий на предметах, окружающих того или иного больного, имеет место очень часто.

В частности можно ожидать обнаружения всех тех патогенных бактерий, которые были находимы в воздухе.

Зараженные предметы обстановки имеют значение лишь для тесного круга лиц.

Некоторые же предметы обихода, в особенности общественного пользования, могут стать источником заражения многих лиц. К таковым относятся например: книги, монеты, бумажные

деньги, письма, игрушки, посуда общего пользования, пошенная одежда и т. п.; на всех этих предметах были находимы патогенные бактерии.

Находки патогенных микробов на предметах обихода

Предметы	Найденные микробы	Авторы
Игрушки . . . . .	<i>B. diphteriae</i>	Abel
Книги . . . . .	<i>Staphylococcus aureus</i>	Cozal, Catrin
Монеты . . . . .	Гноеродные кокки	Vincent
Зубные щетки . . . . .	<i>B. tuberculosis</i>	Dixon
Маски . . . . .		Tirelli
Книги . . . . .		Mittulescu
Журналы . . . . .		Pettersson

О том, что патогенные микробы могут легко передаваться через разные предметы, свидетельствует ряд экспериментальных данных о сравнительно больших сроках выживаемости микробов, нанесенных на поверхность предметов обихода.

Продолжительность жизни патогенных микробов на разных предметах

Предметы	Микробы	Продолжительность жизни	Авторы
Фильтровальная бумага, заложенная в книгу . . . . .	Холерный вибрион	17 часов	Uffelmann
Бумага в конверте . . . . .	Холерный вибрион	23 1/2 часа	
Почтовые открытки . . . . .	Холерный вибрион	20 часов	
Книги . . . . .	Палочка дифтерии	Много дней	Cazal, Catrin
Монеты . . . . .	Холерный вибрион	10—30 мин.	
Золотые монеты . . . . .	Гноеродные кокки	7 дней	Natonec и Reitmann
Серебряные и медные монеты . . . . .	Гноеродные кокки	18 часов	Natonec и Reitmann
Бумажные деньги . . . . .	Стафилококки, тифозные и паратифозные палочки	От нескольких дней до месяцев	Kiefer

Одежда еще в большей степени, чем другие предметы обихода, может быть передатчиком заразы, так как она более подвержена загрязнению выделениями больных и благодаря своей пористости стойко удерживает заразный материал. Кроме того современная верхняя одежда имеет тот недостаток, что она не моется, и при ношении ее годами (а применяемая чистка щеткой далеко не достаточна для освобождения одежды от всех загрязнений) можно себе представить, какое количество бактерий, в том числе и патогенных, в ней скопится.

С моей точки зрения современная одежда должна быть заменена одеждой из моющихся тканей, тогда будет возможна периодическая очистка ее от микробов.

Бактериологическое обследование одежды производилось главным образом на предметах военного обмундирования, причем были найдены: *B. tuberculosis*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *B. coli*, *B. pyocyaneus*, *B. tetanus*, *B. perfringens* (Fontin, Karlinsky, Hobler, Simons).

Dixon находил туберкулезные палочки в шлейфах дамских платьев. К счастью нынешняя мода в этом отношении удачнее. В достаточной мере часто находятся в кожсырье, полупшубках и меховых товарах палочки сибирской язвы. Присутствие ее влечет за собой часто заболевание сибирской язвой, как только уцелевшие споры попадут на поврежденную кожу или вместе с пылью — в дыхательные пути. Karlinsky указывает на большое загрязнение ран одежды, происходящее (особенно при ранениях осколками снарядов и прочих ранениях с обширной поврежденной поверхностью) от частиц одежды, внедряющихся в рану в таком большом количестве, что очистка раны от них иногда не представляется возможной.

О жизнеспособности различных бактерий на тканях дает представление нижеследующая таблица:

Продолжительность жизни патогенных микробов на тканях (по данным Gotschlich)

Микробы	Продолжительность жизни (в днях)	
Тифозная палочка . . . . .	50—80	
Холерный вибрион . . . . .	до 36	(в сухом виде)
Чумная палочка . . . . .	6—8	(под тропиками)
» » . . . . .	30—60	(в умер. климате 15—18°)
Дифтерийная палочка . . . . .	5—12	(на полотне)
» » . . . . .	21—28	(во влажном состоянии)
Пневмококки . . . . .	70—140	(мокрота)
Гонкокки . . . . .	3 часа	(гной на полотне)
Рожистый стрептококк . . . . .	14—36 дн. и более	
Сальная палочка . . . . .	14 дней	

Наибольшее количество бактерий находится в ношенной шерстяной одежде (Seitz, Никольский).

Ношеное белье также сильно загрязнено различными бактериями и часто в том числе патогенными.

Большую опасность представляет передача заразы бельем при совместной стирке белья больных вместе с бельем здоровых.

Вода после первого полоскания грязного ношеного белья содержит большое количество микробов—до миллионов (Schroeder и Southerland). Последующая обработка горячей водой с мылом, повторное полоскание и в особенности глажение совершенно очищают белье.

Правильно и тщательно обработанное белье представляется почти стерильным, но при массовой стирке в общих прачечных зачастую употребляется недостаточно горячая вода, уменьшается количество необходимых отдельных процедур, и это—особенно в тех случаях, когда белье не гладится,—может повести к сохранению в белье патогенных микроорганизмов, бывших на нем или попавших с другого зараженного белья.

Большую опасность представляет возможность загрязнения чистого белья грязным при наличии лишь одной комнаты приема и выдачи белья.

Правильность процесса стирки белья может быть проконтролирована бактериологическим путем (технику см. ниже).

Schroeder и Southerland применили бактериологический контроль к стирке белья в прачечных Нью-Йорка (см. табл. на стр. 30).

Далее из предметов обихода следует обратить внимание на посуду. Возможность заражения через посуду надо изживать, особенно при организации широкого общественного питания, и принимать меры к достигающей цели мойке посуды, а также время от времени проводить соответствующие контроли. Яркими примерами передачи микробов через посуду или соответствующие предметы являются такие факты, как семейный сифилис, возникающий от пользования общей посудой, и заражение стеклодувов на стекольных заводах при пользовании общими выдувательными трубками.

Обычно применяемая мойка посуды в теплой воде (максимум 50°), даже в течение 10 минут, и последующее вытирание полотенцем, как показал ряд опытов, не уничтожают патогенных бактерий. Так, Pinkus нашел после такой обработки живых спирохет сифилиса, Esma-ger — стрептококков, дифтерийную и туберкулезную палочки. Стрептококки и дифтерийная палочки оставались живыми после мытья зараженных вилок 8—24 часа. Это время во всяком случае больше времени, протекающего обычно между двумя приемами пищи, и поэтому передача патогенных микробов от больного или бациллоносителя здоровым вполне возможна и конечно в жизни часто имеет место. Для большей уверенности надо мыть посуду горячим (50°) 2% содовым раствором и еще лучше с мылом, ибо последнее улучшает механическую очистку.

Как велико бывает бактериальное загрязнение посуды после обычной мойки, показывает следующая таблица результатов бактериологического обследования моечной воды и тампонов, которыми обтиралась вымытая ручным способом посуда, полученных Manheimer'ом в Нью-Йорке.

Количество бактерий при ручном способе мытья посуды (обследование ресторанов в Нью-Йорке)

Количество колоний Моечная вода (в 1 см <sup>3</sup> на агаре—24 часа)		Количество проб
1— 1 000 . . . . .		1
1 000— 50 000 . . . . .		5
50 000—100 000 . . . . .		1
100 000—300 000 . . . . .		6
300 000—500 000 . . . . .		4
более 500 000 . . . . .		1
Тампоны после обтирания ложек		
1— 100 . . . . .		8
100— 1 000 . . . . .		6
1 000—50 000 . . . . .		3
более 50 000 . . . . .		3
Тампоны после обтирания краев чашек		
1— 100 . . . . .		4
100— 1 000 . . . . .		5
1 000—50 000 . . . . .		11
более 50 000 . . . . .		2



Особенно велико число бактерий в моечной воде после мытья молочной посуды. Данные же показывают, что при обычном способе ручной мойки, когда очень часто не соблюдается достаточная тщательность, количество бактерий на вымытой посуде может быть очень велико.

К неблагоприятным моментам относятся: недостаточно горячая вода (а очень горячую употреблять нельзя, так как мойка производится руками); спешная мойка, когда посуда слишком мало времени находится в мыльной воде (разгар обедов с необходимостью спешного мытья для подачи следующим посетителям); грязные полотенца для вытирания.

При тщательном проведении мойки при ручном способе можно все же достигнуть удовлетворительных результатов.

Manheimer специально заражал тарелки перед мойкой смачиванием их с последующим высушиванием культурой *V. ruosyuaneus*, разведенной в физиологическом растворе, бульоне и яичном белке.

Зараженные тарелки отдавались в мойку одному из ресторанных, персонал которого знал о цели обследования, и конечно мойка производилась тщательнее обычного.

Результаты бактериологического обследования видны из следующей таблицы.

Бактериологическое исследование вымытых ручным способом тарелок после искусственного их заражения *V. ruosyuaneus*

Опыт	Материал для разведения культуры	Количество бактерий на тарелке
Зараженные тарелки после мойки	{ Физиологический раствор .	50—80
	{ Бульон . . . . .	100—150
	{ Яичный белок . . . . .	100—180
Контроль		
Зараженные тарелки без мойки		500 000—700 000

Этот опыт указывает, что достаточно тщательная мойка ручным способом, не уничтожая всех неспорозных бактерий, дает все же удовлетворительные результаты.

Тот же Manheimer, обследуя результаты мойки машинным способом (обмывание в кипящей или почти кипящей мыльной воде, ополаскивание в горячей чистой воде и ручное высушивание), показал, что последний дает идеальные результаты—как правило все неспорозные формы умерщвляются.

Количество бактерий, оставшихся на ложках и краях чашек, не превышало 50. Такие же хорошие результаты получены при обследовании и после искусственного заражения.

Хорошее действие при машинной мойке объясняется возможностью употребления очень горячей воды.

Количество обследований в данной области невелико, и поэтому дать еще какие-либо руководящие указания не представляется возможным.

## Бактериологический анализ

Б е л ь е	Число прогрева- денных ма- нитуды- ции; взвешивание, мыльная вода, по- ложение	Общее количест- во времени, из- расходованного на стирку		Макси- мум тем- пературы во время процеду- ры	Продол- житель- ность дей- ствия ма- ниту- ма темпера- туры (в минутах)	Проба воды в конце первого полоскания		Проба воды в конце последнего горячего намывания		Будильная культура, за- ключенная в резинную трубку, со- держ.
		час.	мин.			количество бактерий в 1 см <sup>3</sup>	бродильный титр В. coli (лактоза с нейтрализо- ванном)	количе- ство бакте- рий в 1 см <sup>3</sup> на агаре	бродиль- ный титр В. coli	
Семейное белье . . .	41	—	45	83	20	6 730 000	0,0001	57	1,0	стерильно
» » . . .	7	1	32	77	45	4 600 000	0,001	450	1,0	»
» » . . .	6	1	35	75,5	30	9 000 000	0,001	450	1,0	»
» » . . .	5	1	25	77	35	28 000 000	0,001	350	1,0	»
Однотипное . . . . .	6	1	06	60	26	46 200 000	0,001	70	1,0	»
» . . . . .	6	1	10	70	40	374 000	0,0001	80	1,0	»
» . . . . .	7	1	33	69	38	43 000 000	0,01	450	1,0	»
Белое . . . . .	6	1	35	75,5	40	18 000 000	0,001	30	1,0	»
» . . . . .	5	1	55	77	25	90 000	0,001	50	1,0	»
Белье передники . . .	7	1	35	49	30	4 560 000	0,001	400	1,0	»
Передники . . . . .	7	1	50	49	8	1 500 000	0,001	750	1,0	»
Воротнички . . . . .	40	1	50	66	16	300 000	0,001	700	1,0	»
» . . . . .	10	2	27	85	30	4 700 000	0,001	—	—	»
Белье рубашки . . . .	8	1	50	70	30	44 000 000	0,001	600	—	»
» » . . . . .	8	1	10	65	23	259 000	0,1	—	—	»
Полотенца . . . . .	9	1	50	59	45	483 000	0,0001	200	—	»

## ЗАДАЧИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕДМЕТОВ ОБИХОДА

Как видно из вышеизложенного, при бактериологическом исследовании мы должны и можем ставить себе задачей нахождение патогенных бактерий на тех или иных предметах обихода. Обследование такое производится главным образом на предметах общественного пользования и должно производиться в определенном направлении в зависимости от возможности передачи данным предметом той или иной инфекции. Другими словами, мы должны каждый случай индивидуализировать и направлять поиски на одного или ограниченную группу патогенных микробов, ибо полное обследование на все патогенные микробы требует много времени и средств и часто оказывается в значительной своей части бесцельным.

Далее бактериологический метод позволяет нам осуществлять контроль и изучение процессов стирки белья, мойки посуды и т. п.

Бактериологический метод может быть применен и в других областях, но дело его приложения—вопрос будущего.

## МЕТОДИКА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕДМЕТОВ ОБИХОДА

Само исследование не представляет отличий от исследования материала из пыли, почвы и пр.; необходимо указать лишь на приемы собирания и первичного посева материала.

Общепринятых разработанных методов в этом отношении не имеется, и приходится к каждому данному случаю подходить и н д и в и д у а л ь н о, поставив себе целью как можно полнее собирать материал и предупреждать посторонние загрязнения.

В общем можно рекомендовать следующие ориентировочные приемы. При взятии материала с поверхности м е б е л и смывать загрязнение при помощи ватного тампона на прочной ручке, смоченного стерильным физиологическим раствором. Тампон отжимается в стерильный сосуд с небольшим количеством физиологического раствора.

Процедура эта повторяется многократно. Желательно иметь тепловатый физиологический раствор (40°) и к обмыванию в случае необходимости присоединять еще соскребывание поверхности каким-либо стерильным твердым предметом (шпаделем). Собранный материал для определения общего количества бактерий тщательно взбалтывается (лучше с бусами) и высевается в определенном количестве в агар. Число полученных колоний пересчитывается на 1 см<sup>2</sup> поверхности исследуемого предмета. При исследовании на патогенные микробы взвесь загрязнений в физиологическом растворе центрифугируется, и осадок исследуется обычным образом (посевы на соответствующие среды, заражение животных и пр.).

При исследовании м е л к и х п р е д м е т о в можно употреблять той же прием или прямо погружать их в баночку с небольшим количеством физиологического раствора и тщательно отскабливать, выжимать и пр. (монеты, зубные щетки и пр.).

Иногда, если материал может быть уничтожен, его измельчают и взбалтывают в склянке с бусами (загрязненные книги и части их, захватываемые уголки страниц, бумажные деньги и пр.).

## Исследование предметов одежды, тканей, тряпья и пр.

Если возможно, вырезают кусок ткани определенной площади, измельчают ножницами, встряхивают в банке с бусами до  $1\frac{1}{2}$  часа.

Все манипуляции производятся стерильными инструментами. Посев и расчет результатов ведутся, как указано для исследования мебели. В случае невозможности повредить одежду вырезыванием пробного куска ее замачивают целиком в теплом физиологическом растворе и часто встряхивают. Если же предмет одежды велик, то обтирают его снаружи аналогично исследованию мебели; конечно результаты не будут так точны, как при измельчении ткани.

Для исследования кожи на сибирскую язву вырезают куски в таком месте, где менее всего будет поврежден товар (величина куска  $15 \times 10$  см), измельчают ее при помощи специальных пробойников или просто ножницами, заливают в банке с бусами стерильным физиологическим раствором в количестве, примерно в 5 раз большем, чем вес взятой кожи. Экстрагирование производится в Schüttelapparat. Вырезывание кусков кожи, особенно при наличии на ней шерсти, надо производить с предосторожностями против заражения пылью (смачивание и разрезание под вытяжным шкафом). После экстрагирования жидкость фильтруется через марлю<sup>1</sup>, центрифугируется и исследуется обычным образом (см. «Исследование почвы»).

Более часто дает положительный результат реакция преципитации Ascoli. Для производства ее достаточно взять кусок кожи  $5 \times 10$  см и обработать его для получения экстракта, как указано выше. И при этом можно пробы кож предварительно простерилизовать в автоклаве и в дальнейшем работать с ними безбоязненно.

Экстрагирование лучше производить физиологическим раствором с 0,5% карболовой кислоты—получаются более прозрачные экстракты. С полученным экстрактом проделявается реакция Ascoli.

Ниже для руководства приводится инструкция НКЗдрава по производству реакции Ascoli.

В общем пользование реакцией Ascoli представляет те преимущества, что производство ее и транспортировка материала для исследования безопасна, так как работа ведется со стерилизованным материалом. Далее реакция получается даже тогда, когда живых спор в коже нет.

Противопоказанием для производства реакции является широкое распространение в данной местности вакцинации скота против сибирской язвы, ибо, как показали наблюдения в лаборатории Reichsgesundheitsamt (Берлин), очень часто кожи вакцинированного и не болевшего сибирской язвой скота дают положительную реакцию.

### Об исследовании кожсырья на сибирскую язву при помощи реакции преципитации

(Временная инструкция НКЗдрава РСФСР от 9/IV 1928 г.)

Кожсырье может исследоваться при помощи реакции преципитации в сухом и соленом виде. Соленые кожи (в измельченном виде),

<sup>1</sup> Такая фильтрация производится во всех случаях экстрагирования измельченного материала.

необходимо до экстрагирования промывать водой не более 5 минут.

**Примечание.** Кожсырье, подвергнутое какой бы то ни было технической обработке, не подлежит исследованию по методу Ascoli.

## Порядок и техника исследования

Исследование кож на сибирскую язву при помощи реакции преципитации ведется холодным способом после предварительной стерилизации.

**I. Взятие проб на складе.** Пробы вырезаются с мест, не портящих кожу (лапки, пашки), в виде кусков около  $5 \times 10$  см каждый. На коже ставится порядковый номер серии химическим карандашом или какой-либо краской. Пробы нумеруются тем же номером, что и кожи. Нумерация кож может быть достигнута вкладыванием проб в нумерованные гнезда специальных ящиков (металлические).

**II. Пересылка проб со склада в лабораторию** должна производиться в особой укупорке, не пропускающей пыли и воды. Укупорка после пересылки должна поступить вместе с пробами кож в стерилизацию.

При пробах прилагается особая препроводительная ведомость.

**III. Предварительная стерилизация.** Полученные посылки с пробами кож стерилизуются в автоклаве при  $120^\circ$  в течение 20—30 минут. При стерилизации необходимо следить, чтобы не было как замокания, так и пересушки стерилизуемых проб.

**IV. Измельчение проб** ведется: 1) автоматическими приборами, 2) ручными приборами (пробойники с диаметром канала около 0,5 см) и т. д.

Пробы измельчаются в количестве 1,0. Желательно брать весовое количество материала, чтобы соблюдать определенное отношение между экстрагируемым материалом и экстрагирующей жидкостью.

**V. Экстрагирование проб.**

**1. Посуда для экстрагирования:** а) баночки емкостью до 20,0, б) обыкновенные пробирки, в) широкогорлые флаконы.

**Примечание.** Вся посуда при постановке реакции преципитации должна быть совершенно чиста и прозрачна.

**2. Экстрагирующая жидкость** разливается по флаконам или баночкам с измельченными пробами в отношении 1:5 или 1:10 посредством разливательных приборов. В качестве экстрагирующей жидкости берется физиологический раствор 0,85% поваренной соли (очищенной столовой). Прибавление 0,25—0,5% кристаллической карболовой кислоты, предупреждая рост бактерий, дает возможность получения легко фильтруемых экстрактов, сохраняющих прозрачность более суток. Экстрагирование ведется при температуре не выше  $15^\circ$  или в подвале при температуре  $6-10^\circ$ .

Время экстрагирования—от 6 до 24 часов. Удобнее использовать для этого ночь.

3. Нумерация измельченных проб ведется при помощи ящиков с гнездами для пробирок. Число таких гнезд и их номера должны соответствовать числу гнезд и номерам ящиков с пробам.

4. Фильтрация ведется через воронки диаметром в 3 см в обыкновенные пробирки. В качестве фильтра употребляется волокнистый асбест. Фильтры должны быть предварительно промыты физиологическим раствором поваренной соли.

Примечание. Можно употреблять и другие фильтры, например: 1) бумажные складчатые фильтры, 2) размоченную в мязгу фильтровальную бумагу и т. д. или же 3) пользоваться специальными центрифугами.

Экстракты фильтруются до абсолютной прозрачности, по возможности через один и тот же фильтр.

5. Нумерация при фильтрации производится нумерацией штативов при употреблении ящичной нумерации. В этом случае штатив содержит столько гнезд, сколько их в одном ряду ящика с пробам.

Соединение компонентов при реакции ведется или наслаиванием экстракта на сыворотку или подслаиванием сыворотки под экстракт.

Посуда—уленгутовские пробирки с диаметром канала в 0,5—0,6 см и длиной в 7—8 см.

Нумерация при реакции ведется путем соответствия гнезд и номера штатива с уленгутовскими пробирками с гнездами и номером штатива с фильтрованными экстрактами.

Наслаивание экстракта на сыворотку при массовых исследованиях можно вести только пастеровской пипеткой по стенке пробирки, избегая смещения сыворотки и экстракта.

Подслаивание сыворотки под заранее разлитые экстракты может вестись одной пастеровской пипеткой (с капиллярно оттянутым концом и с расширением в середине, емкостью в несколько кубических сантиметров). При контрольных реакциях конец пипетки перед каждым перенесением в другую пробирку нужно опускать на один момент в физиологический раствор. Сыворотки требуется от 0,25 до 0,5 см<sup>3</sup>—в зависимости от калибра пробирок.

Время появления реакции. При употреблении сывороток допустимой активности (дающих обыкновенно с экстрактом из заведомо сибиреязвенной кожи моментальную реакцию) необходимо при «ориентировочной» реакции делать отметки об исходе реакции не позднее чем через 15 минут, а при «контрольной» реакции—не позднее 5 минут. Пробы, давшие при контроле реакцию позднее 5 минут, считаются давшими сомнительную реакцию, а до 5 минут—положительную реакцию. В сомнительных случаях необходимо сделать разведение экстрактов.

Диагностическая оценка производится на черном фоне при проходящем свете. На месте соприкосновения экстракта и сыворотки, если материал был сибиреязвенный, появляется моментально (или в ближайшие 1—15 минут для ориентировочной и 1—5 минут для последующей контрольной реакции) различной резкости серовато-белый диск (по другой номенклатуре «кольцо»). Результат

реакции записывается в особую ведомость. Сила реакции определяется «плюсом» в положительном случае, «минусом» — в отрицательном и «плюс-минусом» — в сомнительном.

При положительных реакциях соответствующие кожи выделяют-ся из тюков, и с ними ставится вторично проверочная реакция.

При каждой постановке реакции ставятся следующие контроли:

1) преципитирующая сыворотка и заведомо сибиреязвенный экс-тракт;

2) преципитирующая сыворотка и экстракт из того же нормаль-ного органа того же вида животного, изготовленного тем же способом, что и исследуемый экстракт;

3) преципитирующая сыворотка и экстрагирующая жидкость;

4) нормальная сыворотка и исследуемый экстракт.

Во избежание случайностей и неспецифических показаний необ-ходимо в контролях применять: а) двойные пробы во всех контролях, б) в контролях с преципитирующей сывороткой желательнo применять не менее двух различных серий преципитирующей сыворотки, близ-ких по титру.

Преципитирующие сыворотки должны быть абсолютно прозрачны. Опалесцирующие сыворотки необходимо фильтровать через бумагу, асбест или свечи.

#### Препроводительная ведомость

1. Кожи принадлежат:

2. Адрес склада:

3. Номера тюков и проб в них:

напр.: Тюк № 251 №№ проб . . . . .	1— 87
» № 252 №№ » . . . . .	88—170
» № 263 №№ » . . . . .	171—250
и т. д.	

---

Всего . . . . . 250

4. Сорт кожи и способ консервирования:

5. Откуда следует и с каким свидетельством:

6. Куда направляются пробы:

7. Кто брал пробы,

Ветврач:

#### Контроль за действительностью стирки белья

Контроль за действительностью стирки белья в общественных прачечных осуществляется пропусканием через стирку кусков ткани (по возможности больших и со швами), смоченных определенным ко-личеством взвеси какой-либо непатогенной легко отличимой бакте-рии (*B. prodigiosus*, *B. ruosynaeus* и т. п.). По уменьшению или пол-ному исчезновению указанных микробов на контрольном куске ткани по сравнению с таким же зараженным куском, не подвергавшимся стирке, судят о действительности стирки.

Смоченные культурой куски тканей рекомендуется предваритель-но подсушивать и смачивать взвесью жидкости, содержащей белок.

Для контроля бактериубивающего действия температуры, до-стигаемой во время стирки, можно по Schröder и Southerland

употреблять тест-объекты из резиновой трубки, наполненной бульонной культурой контрольного микроба определенной густоты (около 500 000 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>). Трубка по наполнении закрывается резиновой пробкой, заклеивается резиновым клеем и пускается в обработку вместе с бельем.

По окончании процесса делают высевы и определяют число жизнеспособных микробов в опытной и контрольной (не прошедшей через стиральные процессы) трубке и сравнением их устанавливают эффект стирки в отношении бактериеубивающего действия на неспорозных микробов. Конечно при этом учитывается лишь действие температуры и совершенно не учитывается действие мыла и механической очистки.

Кроме того определение числа бактерий на чистом белье дает ориентировочные данные о правильности и тщательности мойки.

### **Контроль мойки посуды**

Контроль мойки посуды осуществляется опусканием в мойку наряду с обычной посудой тарелок и других предметов, зараженных культурой непатогенного легко отличимого микроба (как и при контроле стирки). Тарелки высушиваются и пускаются в мойку. По окончании ее стерильным ватным тампоном обмывают поверхность тарелок, края чашек и т. п., и промывную воду засевают. Выросшее количество колоний сравнивается с таковым при посеве промывной воды с зараженных невымытых предметов.

Кроме этих контрольных опытов обычное определение числа бактерий на поверхности вымытой посуды позволяет до некоторой степени ориентироваться относительно успешности мойки.

Проведение указанных контрольных обследований имеет большое значение, так как позволяет выработать подходящую и возможную при данных условиях методику стирки и мойки, дающую максимальный эффект. Кроме того они позволяют учитывать такие дефекты, которые проходят при легучем санитарном осмотре незамеченными, так как при осмотре обычно персонал подтягивается и все манипуляции производятся с большей тщательностью.

Метод бактериологического контроля позволяет судить о том, что происходит тогда, когда за персоналом не наблюдает глаз санитарного врача. Можно например внезапно произвести обследование посуды, столовых приборов в столовых, буфетах, ресторанах и т. д.

Как видно из изложенного, окончательная разработка вопроса о бактериологическом исследовании в данной области—дело будущего.

## **ГЛАВА ТРЕТЬЯ**

### **КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ О ДОВОМ ГРИБЕ**

В жилых помещениях с большой степенью сырости часто поселяется домовый гриб. Поражая деревянные части строения, он в течение короткого времени (год) может его совершенно разрушить.



Домовый гриб—разрушитель дерева—встречается главным образом в виде двух разновидностей: 1) *Merulius destruens* (*lacrymans*), 2) *Polyporus variegatus*. Первый обычно встречается чаще и вызывает более значительные разрушения.

## MERULIUS DESTRUENS (LACRYMANS)

Гриб этот поселяется в самых сырых местах помещения (возле водопроводных кранов, ванн и т. п.). Все породы дерева поражаются им одинаково.

Субстратный мицелий *Merulius destruens* состоит из двоякого рода гиф: толстых и тонких.

На толстых часто образуются так называемые пряжки. Образование пряжек не может рассматриваться как специфическая особенность данного гриба, так как их образуют все гименомицеты. Иногда от узловатого утолщения пряжки вырастают боковые нити. Последнее явление Hartig считает специфичным для *Merulius destruens*. В противоположность Hartig Илькевич не признает в данном случае специфичности, так как он наблюдал боковые отростки и у других грибов.

Таким образом вопрос о специфичности выростов остается открытым. Но видимо практически при обследовании деревянных частей строения этому признаку следует придавать важное значение.

Признак этот по Наумову является единственным, позволяющим дифференцировать *Merulius destruens* от других разрушителей дерева. Конечно нельзя ограничиваться установлением одного этого признака, а следует обращать внимание и на все остальные признаки. Если какие-либо из них не соответствуют свойствам *Merulius*, то диагноз несмотря на наличие пряжек становится весьма сомнительным.

Воздушный мицелий гриба характерен своими обширными ватообразными скоплениями, образующимися в очень сыром воздухе. Обычно же мицелий представляется в виде пленок различной консистенции, покрывающих деревянные или каменные части строения.

Часто гифы соединяются в шнуры толщиной до 6 мм.

Шнуры эти вряд ли служат для проведения воды, как полагают некоторые, а лишь для газообмена и плодоношения (Илькевич).

Поэтому увеличение сырости помещений от присутствия гриба благодаря высасываемой им из нижних сырых частей здания воде вряд ли имеет место в действительности.

Мицелий, а также пленки и шнуры, образованные им, окрашены сначала в белый цвет, в дальнейшем—в дымчато-серый с розоватым оттенком. Иногда наблюдаются местами красные и голубоватые оттенки, придающие грибу весьма пестрый вид (окраска дрозда,—откуда гриб и получил свое название).

На нитях мицелия часто отлагаются капельки жидкости, видимые невооруженным глазом, в виде росы (отсюда и название *lacrymans*) и мелкие кристаллы щавелевокислой извести. Такие же капельки воды и кристаллы образуются и многими другими грибами, и поэтому служить диагностическим признаком они не могут.

При соответствующих условиях—достаточная температура (18—22°), влажность и пр.—гриб образует плодовые тела. Последние пред-

ставляют собой желто-бурые лепешки величиной обычно в ладонь, покрытые с поверхности складками. На поверхности плодового тела виден сперва белый, потом желтоватый порошок—это споры. Споры *Merulius destruens*, как и другого вида домового гриба—*Polyporus variegatus*,—имеют характерную форму в виде бобов или кофейных зерен. Споры под микроскопом окрашены в желтый цвет, иногда в них видны капельки жира (?). Величина спор имеет весьма важное диагностическое значение. У *Merulius* споры обладают следующей величиной (Илькевич): длина—9—11  $\mu$ , ширина—4,5—6,5  $\mu$ , толщина—3  $\mu$ .

Древесина, пораженная грибом *Merulius*, сперва приобретает красноватый оттенок, потом буреет, и в ней появляются взаимно перпендикулярные трещины.

Заражение грибом здоровых построек происходит главным образом через споры, хотя и мицелий также обладает способностью прорасти на новых местах.

## POLYPORUS VAPORARIUS

В общем производит те же изменения и обладает теми же свойствами. В отличие от *Merulius destruens* шнуры и мицелий этого гриба и в поздних стадиях развития сохраняют белый цвет или незначительно сереют или желтеют. Плодовое тело имеет ячеистое строение и белый цвет.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

**В з я т и е п р о б.** При взятии проб стараются обнаружить плодовое тело и берут таковое при исследовании. В случае отсутствия плодовых тел берут наиболее свежие участки мицелия вместе с отрезками досок, на которых он располагается. При транспортировке следует принимать меры против рассеивания спор, могущих вызвать заражение здоровых деревянных построек.

**И с с л е д о в а н и е.** Доставленные в лабораторию пробы осматриваются макроскопически, затем готовят препараты, расщеплением кусочков мицелия препаровальными иглами в капле воды; препараты затем покрываются покровными стеклами.

Также готовится препарат соскоба с поверхности плодового тела. Если доставлены плодовое тело и мицелий, то обычно сразу можно установить диагноз по наличию характерной окраски мицелия, величине, форме и окраске спор, по виду плодового тела и пряжек с выростами.

Из приведенных признаков обязательными для диагноза являются все, кроме последнего.

Если плодовое тело не доставлено, то диагноз становится крайне затруднительным. Одним наличием пряжек с выростами руководствоваться рискованно; кроме того они не всегда имеются даже у настоящего *Merulius destruens*.

В таких случаях прибегают к к у л ь т у р е. Посев производят на кусок стерильного дерева, помещенный в банку, на дно которой налито небольшое количество воды. В таких условиях уже через

несколько дней начинают образовываться обширные разрастания мицелия. Часто в препаратах из свежего мицелия можно обнаружить пряжки с выростами, отсутствовавшие в присланном материале. Илькевич рекомендует для посева домашнего гриба пользоваться средой следующего состава:

Дистиллированной воды . . . . .	1 000 см <sup>3</sup>
Мясного экстракта . . . . .	25 »
Солодового экстракта . . . . .	25 »
Лимонной кислоты . . . . .	10 »
Агар-агара . . . . .	10 »

Среда разливается в колбочки Эрленмейера слоем высотой в 4—5 см. Посевы ставятся при 22°. На такой питательной среде иногда можно наблюдать кроме развития мицелия образование плодового тела. Но появляется оно зачастую очень поздно (через 2 месяца), а подчас и вовсе не появляется. Характерное изменение дерева, искусственно зараженного грибом, подтверждает диагноз.

## САНИТАРНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДОМОВОГО ГРИБА

Согласно детальным исследованиям Илькевича следует считать мицелий и споры *Merulius destruens* неспособными вызвать заболевания у человека, так что в этом отношении появление домашнего гриба опасности не представляет. Снято с домашнего гриба также и обвинение в том, что он вызывает своим присутствием появление сырости. Домовый гриб не увеличивает сырость помещения, но может появляться лишь в ненормально сырых помещениях. В сухих помещениях гриб не развивается. Такое обстоятельство позволило Илькевичу высказать интересную мысль о «полезности» гриба как показателя такой степени сырости помещения, при которой оно под жилье не годится. Другое «полезное» свойство его заключается в том, что гриб уничтожает такие негодные по сырости строения.

Вредное действие домашнего гриба может сказаться в увеличении в воздухе углекислоты. Так, имеются наблюдения, что помещение, пораженное грибом, содержало в воздухе 1,4% CO<sub>2</sub> при содержании последней в наружном воздухе в количестве 0,4% (Илькевич).

Из мер борьбы с домовым грибом рекомендуют удаление пораженных частей, высушивание строения (очень важно) и обмывание здоровых частей 5% медным купоросом (Наумов). Следует указать, что без высушивания все меры борьбы оказываются обычно безуспешными.

Желающие получить детальные сведения о грибах-разрушителях дерева найдут их в книге Илькевича «Домовый гриб» и другой специальной литературе.

## ГЛАВА ЧЕТВЕРТАЯ

### ПОЧВА

#### НОРМАЛЬНАЯ БАКТЕРИЙНАЯ ФЛОРА ПОЧВЫ

Микробиологическое население почвы отличается чрезвычайным обилием и разнообразием. В состав его входят: 1) бактерии, 2) акти-

номицеты, 3) плесени, 4) дрожжи, 5) protozoa, 6) микроскопические водоросли. Так как предметом нашего изучения является лишь бактериальная флора, то мы ограничимся описанием лишь ее, присоединив, поскольку это будет нужно для полноты изложения, данные о плесенях и дрожжах.

Protozoa почвы видимо играют большую роль в микробиологических процессах почвы, но методика их определения не разработана, а роль различных видов их для санитарной оценки почвы совершенно не выяснена.

Бактерийное население почвы и в качественном и в количественном отношении громадно. Определение в каждом данном случае всех бактериальных видов, населяющих почву, представляет задачу практически почти неразрешимую.

Существование в почве самых разнообразных по своим физиологическим свойствам микробов заставило бы употреблять огромное количество разнообразных сред, помещать каждый посев в различные условия (температура, анаэробизм и пр.), и все же мы не смогли бы выделить всех видов, так как есть бактерии, вообще не выделяемые в чистых культурах.

При полном качественном анализе почвы пришлось бы затратить массу времени и материалов, и в конце концов полученные результаты не окупили бы затраченного времени и средств.

Если выяснение возможно подробнее качественного состава микрофлоры почвы имеет значение для агрономии, то для практического санитарного исследования почвы такое исследование большой ценности не представляет, ибо значение тех или иных видов бактерий для санитарной оценки почвы достаточно хорошо не изучено. Санитарное исследование почвы должно иметь в виду изучение микроорганизмов, обуславливающих разрушение органических веществ, микроорганизмов, являющихся антагонистами или, наоборот, способствующих размножению патогенных бактерий, обнаружение патогенных микробов и таких сапрофитов, которые или могут стать при известных условиях причиной заболевания или являются показателями возможности присутствия в почве патогенных микроорганизмов.

Определение общего количества бактерий в почве тоже не представляет большого интереса для санитарной оценки, так как мало разработано значение того или иного количества бактерий.

Но некоторый смысл такое исследование имеет. Например мы можем считать, что почва, бедная бактериями, более благоприятна для развития и сохранения патогенных бактерий благодаря меньшей силе явлений антагонизма со стороны сапрофитов.

Здесь следует указать, что обычно применяемая для количественного учета бактерий в почве методика посевов на твердой питательной среде не дает точных результатов.

При подсчете колоний, выросших на агаре и желатине, совершенно не учитываются микроорганизмы, вовсе не растущие на этих средах (нитрифицирующие и т. п.), не учитываются анаэробы и т. д.

Помимо этого на получение меньшего числа бактерий, чем это имеет место на самом деле, влияют следующие причины: 1) наличие

в почве большого количества зооглей и других скоплений микробов. При посеве каждое такое скопление даст одну колонию и будет подсчитано за одну микробную клетку, в то время как их там может быть несколько десятков; 2) явление адсорбции: в почве многие бактерии сильно адсорбируются частичками почвы и при приготовлении «почвенной болтушки» (Худяков), т. е. взвеси для посевов, масса бактерий не отмывается от частиц почвы и потому не может быть учтена при посеве.

Действительно наблюдения Войткевич и Whittles показали, что после раздробления почвы в воде, особенно при помощи вибрационного аппарата (обычное встряхивание несмотря на большую силу дает худшие результаты), посевы дают в 1 000 раз больше колоний. Поэтому все многочисленные прежние результаты исследования почвы с количеством бактерий в среднем в несколько миллионов на 1 г почвы должны считаться не соответствующими действительности. Среднее количество микробов в почве мы можем считать равным десяткам миллиардов (Худяков).

Действительно, применяя метод количественного учета микробов Виноградского, Сопн и Рихтер получили на 1 г почвы 1—6 миллиардов бактерий вместо обычных миллионов прежних исследований, а метод этот тоже учитывает далеко не все организмы. Поэтому можно считать, что все старые данные о связи между качеством почвы и количеством бактерий в ней являются необоснованными, так как получены при работе с неудовлетворительной методикой. Единственно, что можно установить на основании прежних исследований,—это постепенное уменьшение числа бактерий в вертикальном направлении. В то время как на поверхности на 1 г почвы приходится миллионы (согласно прежним исследованиям) бактерий, в глубине около 2 м почва представляется стерильной (Fränkel, Reimers, Kramer, Proscauer, Fulles и др.). На полях орошения на глубине 2—3 м большинство проб оказывается стерильным (Lösener). В некоторых случаях стерильный слой лежит ниже, но в общем стерильность глубоких слоев почвы является правилом.

Следующие данные Kramer и Reimers дают представление о постепенном уменьшении числа бактерий по направлению в глубину (цифры эти имеют лишь относительную ценность—см. выше):

Кramer, глина с перегноем. Количество бактерий в 1 г	
Глубина в см	
20	650 000
50	500 000
70	276 000
100	36 000
120	5 000
140	700
165	единич. колонии

Reimers Количество бактерий в 1 г	
Глубина в см	
На поверхности	2 564 800
200 (глина)	23 100
350 (гравий)	6 470
450 (песок)	1 580
600	0

По Löhnis максимум числа микроорганизмов имеет место на глубине 10—20 см.

В девственных почвах стерильный слой ближе к поверхности, в давно возделываемых и населенных—глубже. Причинами, обуславливающими стерильность глубоких слоев, являются следующие:

1. Фильтрующая сила почвенных слоев. При существовании например щелей в скалах и вообще неоднородности почвы бактерии могут проникать очень глубоко, но уже слоя плотной почвы в метр толщиной достаточно, чтобы задержать почти все бактерии.

Экспериментальные исследования показали, что при поливании поверхности почвы жидкой культурой какого-либо микроба последний не проникал глубже 50—60 см (Grancher и Deschamps, Würtz и Mosny), а по Blasi—даже не дальше 20 см глубины.

2. Низкая температура в глубине почвы. Fränkel помещал посевы в различных глубинах и установил, что на глубине 3 м *B. anthracis* не дал роста, холерный вибрион рос лишь в летнее время; исключением явился *B. typhi*, который дал обычный рост.

Данный фактор имеет большее значение для патогенных микробов, чем для обычных сапрофитов, привыкших размножаться и жить вообще при более низких температурах, чем паразиты.

3. Недостаток питательных веществ и большая концентрация углекислоты в почвенном воздухе.

Одним из главнейших факторов фильтрующей способности почвы является адсорбция, изучаемая в настоящее время рядом микробиологов (Виноградский, Дианова, Ворошилова и др.).

Ввиду того, что явление это может иметь значение для понимания некоторых фактов, важных в санитарном отношении, я позволю себе остановиться на этом вопросе.

Явление адсорбции можно обнаружить следующим опытом. К 5 г почвы в пробирке прибавляют 1 см<sup>3</sup> бульонной культуры какого-либо микроба.

Через некоторое время в пробирку вносят 9 см<sup>3</sup> стерильной воды. Взвесь взбалтывают одну минуту, дают отстояться в течение 10 минут и затем для учета количества бактерий в жидкости делают высев определенного объема отстоявшейся жидкости или ее разведения.

Одновременно для контроля те же манипуляции проделывают с 1 см<sup>3</sup> бульонной культуры микроба, внесенным в пустую стерильную пробирку, и в заключение тоже делают высев того же количества.

Произведенные таким способом опыты показали, что адсорбционная способность почвы очень велика. Но не все виды микроорганизмов адсорбируются одинаково (Фрей, по Худякову). Черноземные почвы адсорбируют сильнее, чем песчаные.

О величине адсорбции свидетельствуют следующие цифры: из 1 169 500 000 экземпляров *Staphylococcus aureus* поглотилось 5 г суглинистой почвы 1 130 600 000, или 96% всего количества, а 5 г песка поглотилось лишь 7%.

Разница в степени поглощаемости в отношении различных видов микробов может быть следующей: *B. mycoides*—80—90% поглощаемости, *B. prodigiosus*—90—99,7%, *Staphylococcus pyogenes*—96—98%, *B. coli*—10—20%. Предельное число поглощаемых микробов—примерно 7 млрд. на 1 г.

Малая поглощаемость *B. coli* дает возможность предположить, что он, как и другие патогенные бактерии этой группы, может глубже уходить под землю и при некоторых благоприятных условиях длительно там существовать (см. ниже).

### Специфическая флора почвы

Попытки подойти к вопросу об установлении, какие виды бактерий являются специфическими для почвы, дали еще недостаточно материала для того, чтобы делать какие-либо выводы.

Виноградский (1925) подходит к вопросу о специфической нормальной флоре почвы на основании исследования почвы, находящейся много лет под паром, следовательно переварившей все «случайные загрязнения». Он установил, что такая почва содержит главным образом кокков.

На основании этого Виноградский считает все находимые в почве палочки ненормальной флорой от загрязнения.

По мнению Худякова такой взгляд вряд ли представляется правильным, так как наличие в почве гниения органических веществ, вызываемого соответствующим составом бактериального населения, есть процесс нормальный, а следовательно и обычно находящаяся в такой почве флора нормальна. Если исходить из последнего взгляда, то флору почвы можно представить рядом групп микроорганизмов, обуславливающих химические процессы в почве, ведущие к минерализации попадающих в почву органических веществ.

1. Гнилостные микроорганизмы превращают белки через ряд промежуточных соединений (альбумозы, пептоны и аминокислота и пр.) в следующие соединения:  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_3\text{SH}$  и др. Попутно могут образоваться фенол, крезол, скатол, индол, фенилэтиламин, *p*-оксифенилэтиламин, птомаины и др. Гнилостные микроорганизмы делятся на сапрогенные и трипсиногенные. Первые чаще и в большем количестве встречаются в почве и обуславливают глубокую минерализацию белков; к ним можно отнести: *B. mycoides*, *B. subtilis*, *Proteus v.*, *Proteus mir.* и *Zenkeri*, *B. cloacae*, разные актиномицеты, анаэробы, *B. putrificus*, *B. perfringens*, *B. sporogenes*, *B. oedematiens maligni* и др. Трипсиногенные обуславливают распад лишь до альбумоз и пептонов; из большого числа их видов можно назвать *B. fluorescens*, *B. liquefaciens*, *B. coli*, различные плесени. Parr, Conn и Bright считают, что наибольшую активность в образовании амиака проявляют не споровые, а флуоресцирующие и образующие желтый пигмент палочки.

2. Нитрифицирующие бактерии, превращающие аммиачные соли, получившиеся в результате распада белка, в соли азотной кислоты, причем процесс идет в две фазы: сперва так называемые нитробактерии превращают аммиачные соли в азотистокислые соли и затем последние нитробактериями переводятся в соли азотной кислоты.

К нитрозобактериям: относится *Nitrosomonas europea*, *Nitrosomonas gronigenis*, *Nitrosococcus*.

К нитробактериям относятся: *Nitrobacter Winogradski*, *Nitrobacter punctatus*, *Nitrobacter flavus*, *Nitrobacter opacus*. Опи-

сан еще *V. nitrator*, производящий нитрификацию в один прием, т. е. превращающий амонийные соли прямо в соли азотной кислоты.

3. Бактерии, разлагающие мочевину. Мочевина в большом количестве выделяется человеком и животными, и превращение ее в аммиачные соли идет благодаря жизнедеятельности особой группы микроорганизмов. К ним относятся: *V. probatus* Vichaevev, *Achromobacter amylovorum*, *Pseudomonas ureae*, *B. alkali-genes ammoniagenes*, *Planosarcina ureae*, *Micrococcus ureae*.

4. Денитрифицирующие бактерии. Эти микроорганизмы обуславливают восстановление солей азотной кислоты. Эти микроорганизмы могут быть разбиты на ряд подгрупп: а) восстанавливающие соли азотной кислоты в соли азотистой кислоты: *Proteus vulgaris* (одновременно и гнилостный), *B. coli* com., *B. paracoli* I и II (по Gilbert и Lion), *B. cloacae*, *B. fae calis alkaligenes*, *B. fluorescens liquefaciens*, различные плесени: *B. aquatilis solidus* и др.; б) восстанавливающие соли азотной и азотистой кислоты до газообразного азота: *Pseudomonas aeruginosa* (*B. pyocyaneus*), *Flavobakterium Schirokikhi* (Jensen), *Vibrio denitrificans*, *B. denitrificans* II Burri-Stutzer, *B. denitrificans* I Burri-Stutzer, *B. praepollens* Maassen, *B. nitroxus*; в) восстанавливающие нитраты в аммиак: *B. prodigiosus*, *Staphylococcus* и др.

Морские виды денитрифицирующих микроорганизмов: *B. actinopelte*, *B. lobatum*, *B. trivialis*, *B. linkoi*, *B. barentsianum*.

5. Серобактерии, превращающие сероводород, образовавшийся как продукт распада высших органических соединений, в соли серной кислоты. К ним относятся: *Beggiatoa mirabilis*, *Thiophysa volutans*, *Th. macrophysa*, роды *Beggiatoa*, *Thioploca*, *Thiothrix*, *Thiophysa*, *Thiospirillum*, пурпурные бактерии, напр. *Chromatium Okenii*.

6. Бактерии, восстанавливающие соли серной, сернистой и серноватистой кислоты в сероводород: *Spir. desulfuricus* и др.

7. Бактерии, разлагающие клетчатку. Клетчатка благодаря своей прочности не поддается действию обычных гнилостных микробов и разлагается особыми видами, образовавшимися в процессе естественного отбора. К ним относятся: *B. cellulosaehydrogenicus*, *B. cellulosaemethanicus*, *B. ferrugineus*, *Micr. cythophagus*, *M. melanocyclus*, *Proteus Nadsonii*, разные актиномицеты и грибки.

Между прочим специфический запах земли и обуславливается летучими продуктами жизнедеятельности актиномицетов.

8. Маслянокислые бактерии вызывают распад углеводов до масляной кислоты,  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$  и др., напр. *Amylobacter*, *B. pasterianum*, *B. botulinus*, *B. perfringens* и др.—все анаэробы.

9. Возбудители пектинового брожения и мацерации растений. Разрушение попадающих в почву растений, а именно связующего межклеточного вещества—пектина, происходит под влиянием специальных видов бактерий. Эти бактерии играют большую роль в моче льна и других прядильных бактерий. Этот процесс обуславливается маслянокислыми вышеописанными бактериями и *B. Omelianskii*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. astenosporus*, плесени, *Granulobacter pectinovorum* Бенеринга.



Кроме того мы имеем ряд бактерий, участвующих в превращениях соединений фосфора, железа, в разложении углеводов и карбонизации (образование каменного угля, гуминовых веществ и пр.).

10. Бактерии, усваивающие атмосферный азот: А) свободноживущие: *Clostridium Pasterianum*, *Azotobacter chroococcum*; Б) клубеньковые (живущие в клубеньках бобовых растений). (Свойства большинства приведенных микроорганизмов см. в таблицах в конце книги.)

Все эти разнообразные микроорганизмы играют важную роль в создании плодородности почвы и имеют и санитарное значение, так как разрушают органические вещества, загрязняющие почву. Большое значение они приобретают для разрушения органических веществ в почве полей орошения, в почве свалочных мест мусора, обезвреживаемого зашкой в землю, и для минерализации трупов в почве кладбищ.

Флора почвы в качественном и количественном отношении не представляет чего-либо постоянного и представляет систему, изменяющуюся благодаря естественным процессам изменчивости микробов и процессам естественного отбора, протекающим в почве очень резко и быстро. Достаточно в почву, казалось бы, с более или менее установившейся флорой внести какое-либо вещество, например углеводы, как сразу состав микробной ассоциации изменится за счет увеличения главным образом микробов, разлагающих углеводы.

Помимо приведенных выше видов микроорганизмов в почве встречается большое количество сапрофитов, играющих менее важную роль в процессах превращения химических веществ или, вернее говоря, таких, роль которых недостаточно или вовсе не изучена. Среди них много спороносных, пигментных термофильных палочек и сапрофитных кокков, также частью пигментных бактерий.

По Горовиц-Власовой в почве встречаются следующие представители аэробов (в этот список частично входят микробы, упомянутые выше).

### Палочки

#### Спороносные

<i>B. mycoides</i>	<i>B. fioliaceus</i>
» <i>ramosus liquefaciens</i>	» <i>cacei</i>
» <i>subtilis</i>	» <i>cereus</i>
» <i>mesentericus vulgatus</i>	» <i>tomentosus</i>
» <i>aerophilus</i>	» <i>stellatus</i>
» <i>hyalinus</i>	» <i>fiolinceus</i>
» <i>implexus</i>	» <i>terminalis</i>
» <i>megaterium</i>	» <i>lineatus</i>
» <i>cl. polymyxa</i>	» <i>pseudotetanicus</i>

#### Термофильные (optimum 60°)

- B. termophilus albus, odoratus, ramosus*
- B. terrestris*

#### Неспороносные

##### Пигментные

<i>B. citreus</i>	<i>B. fluorescens liquefaciens</i>
» <i>aureus liquefaciens</i>	» <i>roseus</i>

B. arborescens  
 » flaveus  
 » fulvus  
 » luteus palescens  
 » nubicus  
 » ochraceus

B. prodigiosus  
 » violaceus  
 » janthinus  
 » aquatilis com.  
 » brunificans

#### Непигментные

B. aquatilis sulcatus  
 » superficialis Jordani  
 » aquatilis solidus  
 » coli  
 » paracoli  
 Proteus Zopfii  
 Proteus vulg.

B. cloacae  
 » pellucidus  
 » nacreaceus  
 » chryseus  
 » brunificans  
 » griseus

#### Кокки

M. albus liquefaciens  
 » candicans  
 » candidus  
 » coralloides  
 » cezeus albus  
 » rosettaceus  
 » aquatilis  
 » cereus flavus  
 » pellucidus

M. citreus conglomeratus  
 » sulfureus  
 » luteus  
 » roseus  
 » rubefaciens  
 S. cinereus  
 V. terrigenus  
 M. cinnabareus

#### Прочие микроорганизмы

Torula alba  
 » rosea  
 Saccharomyces cerevisiae  
 Aspergillus niger  
 Penicillium glaucum  
 Mucor mucedo  
 Actinomyces dichotoma  
 » chromogenes и др.

Приведенный список является конечно каплей в море по сравнению с разнообразием видов почвы, и кроме того описания указанных микроорганизмов устарели и вряд ли могут при современных знаниях считаться точно установленными видовыми понятиями. Frei и Hagan методом накопления установили в почве наличие кислотоупорных микробов.

Общее количество анаэробных видов в почве кроме спороносных анаэробов группы *Clostridium* (микробы раневых инфекций) систематически и с применением правильных приемов также не изучалось. Поэтому мы не в состоянии ответить на вопрос, какое количество анаэробных бактерий приходится на 1 г почвы.

Кроме бактерий в почве сильно распространены актиномицеты. По Hiltner и Störner количество последних составляет 20—30% всего бактериального населения почвы. По мере углубления относительное количество актиномицетов увеличивается. По Waksman и Curtis на глубине 75 см актиномицеты составляют 66% всего числа бактерий.

Плесени также встречаются в почве в большом количестве. Waksman находил на 1 г почвы до миллиона плесеней. Почвы холодного климата богаче видами *Penicillium* и *Mucor*, а в почвах теплого климата больше видов *Aspergillus*.

Худяков полагает, что метод посева в питательной среде для учета плесеней вовсе неприменим, так как например почва, содержащая

в 1 г много развитых взрослых экземпляров грибов, может дать при посеве одинаковые цифры с почвой, содержащей в 1 г один-два «чахлых экземпляра» с многими тысячами спор. Поэтому Худяков предлагает применять для количественного учета лишь микроскопический метод с его приблизительным учетом количества (много, мало и т. п.).

Д р о ж ж и также могут не только сохраняться, но и развиваться в почве.

Других микроорганизмов мы вовсе касаться не будем.

Наиболее важным из процессов химических превращений, протекающих в почве, является так называемый круговорот азота. Ход превращений азота может быть представлен следующим образом.

Органический азот животного и растительного белка под влиянием гнилостных микроорганизмов при последовательном гидролитиче-

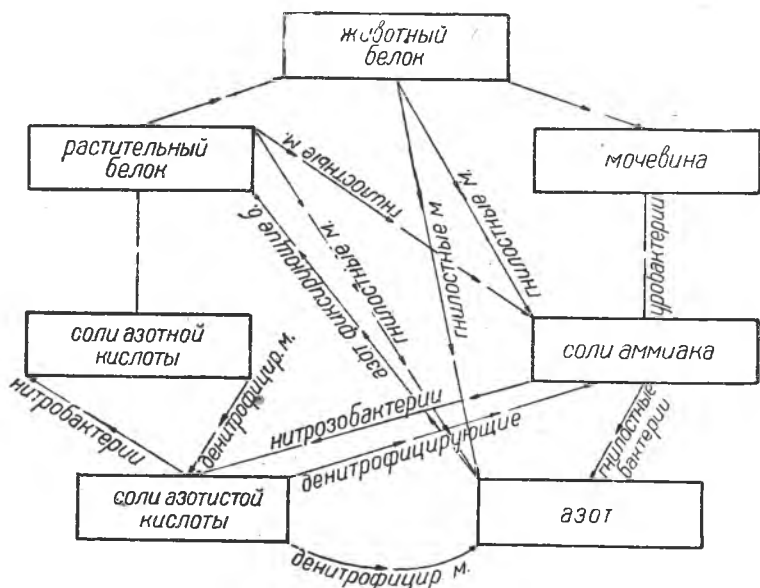


Рис. 7. Схема круговорота азота.

ском разложении белковых молекул, проходя ряд промежуточных продуктов: пептоны, альбумозы, аминокислоты, превращается в конечном итоге в аммиачные соли, растениями и животными не усваивающиеся.

Последние под влиянием нитрозобактерий переходят в соли азотистой кислоты, а последние под влиянием нитробактерий — в соли азотной кислоты.

Мочевина, образуемая как продукт обмена веществ живых организмов, также расщепляется уробактериями до аммиачных солей и далее процессом нитрификации доводится до солей азотной кислоты.

Соли азотной кислоты уже могут усваиваться растениями или, подвергаясь процессам денитрификации, под влиянием специальных видов бактерий превращаются в газообразный азот.

Вместе с тем под влиянием гнилостных бактерий белки и мочевина частично могут разлагаться с образованием свободного азота. Послед-

ние два процесса таили бы в себе опасность возможности постепенного уменьшения запасов азота в таких формах, которые могут усваиваться растениями и животными вследствие перехода его в газообразное состояние в атмосферу, откуда животные и растения ассимилировать его не могут.

Но этого в действительности не происходит благодаря деятельности азотфиксирующих бактерий, способных усваивать газообразный азот и передавать его в виде органических соединений растениям.

Таким образом схему круговорота азота можно себе представить следующим образом (рис. 7 на стр. 47).

Таким образом все процессы круговорота азота представляются полезными и поддерживают нормальные запасы органического азота.

В некоторых случаях процесс денитрификации представляется вредным, так как, переводя соли азотной кислоты в азотистокислые, газообразный азот и амiak, он следовательно переводит азот в соединения, не могущие быть усвоенными растениями непосредственно. Но в некоторых случаях, как например при спуске сточных вод в реку (р. Дон—Взоров), денитрификация, уменьшая запасы полезного для развития растений азота, предупреждает развитие в реке водорослей и других растений.

Аналогичным образом происходят процессы круговорота углерода, фосфора, серы, железа и пр.

## ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В ПОЧВЕ

### Введение

Поверхность почвы постоянно загрязняется экскрементами человека и животных, сплошь и рядом содержащими патогенные бактерии. Поэтому вполне естественно, что в почве мы находим ряд различных патогенных видов.

К счастью роль почвы как передатчика заразы не так велика, как это считалось раньше (ср. теорию Petenkoffer), ибо в почве патогенные микробы встречаются с целым рядом неблагоприятных для их развития условий.

Из них назовем главнейшие: 1) недостаток, а для некоторых патогенных микробов полное отсутствие необходимых питательных веществ; 2) антагонистическая деятельность бактерий—сапрофитов, protozoa и т. п.; 3) действие солнечного света, высыхание поверхности, действие ольших концентраций углекислоты в почвенном воздухе и низкая температура на глубине; 4) действие бактериофагов.

Поэтому наибольшими шансами на длительное существование обладают наиболее устойчивые виды.

Среди патогенных микробов почвы мы встречаем главным образом спороносных аэробов и анаэробов (*B. anthracis*, *B. tetani* и т. д.), хотя и некоторые неспороносные виды могут довольно длительно существовать в почве. К таким видам относятся: *B. typhi*, *B. paratyphi*, *B. tbc*; первые два микроба могут видимо длительно сохраняться в глубине почвы, защищенные от антагонистического действия сапрофитов поверхности (см. выше), и при случайном разрывании земли давать повод к возникновению заболеваний (нередки эпидемии брюшного тифа среди рабочих земляных разработок).

Вообще говоря, ряд экспериментов показал, что в нормальных условиях бактерии из глубины не поднимаются к поверхности. Так, Souka показал, что капиллярно поднимающаяся почвенная вода поднимает патогенные бактерии в течение 1—2 дней на высоту не более 20 см, а по Pfeiffer—лишь на 4—5 см.

Движение почвенного воздуха не оказывает влияния на движение бактерий вверх. Даже сильный искусственный ток воздуха в сухой почве поднимает бактерии лишь на несколько сантиметров.

Поэтому можно полагать, что патогенные бактерии, попавшие так или иначе в глубину земли, на поверхность ее не выходят. Этот факт очень важен например для выяснения возможности выхода на поверхность земли патогенных бактерий из заразных трупов людей и животных.

Но всякие случайные обнажения внутренних слоев, а также перенос бактерий из низших слоев на поверхность при помощи земляных червей (Pasteur), вымывание грунтовой водой делают возможным заражение от таких погребенных бактерий.

Ряд экспериментов показывает, что некоторые неспорозные патогенные бактерии могут длительно сохраняться в почве.

*B. typhi* сохраняется в нестерильной почве 3—5 месяцев (Blasi, Karlinski, Uffelmann), в стерилизованной—11—16 месяцев (Robertson, Rullmann). Последнее интересно, так как подтверждает высказанную выше мысль о возможности длительной сохраняемости *B. typhi* в низших стерильных слоях почвы. *V. cholerae asiaticae* в нестерильной почве живет несколько дней, а в стерилизованной—до 174 дней (Dem-pster, Manfredi и др.). *B. tuberculosis* сохраняется в почве до 3 месяцев.

Для учета возможности повторных захоронений или использования площади кладбища для других целей представляется необходимым ориентироваться относительно продолжительности жизни различных патогенных микробов на трупах.

Gotschlich собрал следующие данные по этому вопросу:

Микроб	Продолжительность жизни	Автор
Холерный вибрион	Несколько дней, редко до 30 дней	Petri
Чумная палочка	3 дня	Gotschlich
» »	16 дней	Sata
» »	22—30 дней	Jokote
Тифозная палочка	До 3 мес.	Karlinski
Туберкулезная палочка	До 5 мес.	Cadeac и Malet
» »	2 года	Schotelius
Гноеродные кокки	1—2 мес.	Klein
Дифтерийная палочка	2—3 недели	Turco, Bombeici
<i>B. tetanus</i>	80 дней (!)	Klein
<i>B. anthracis</i>	Несколько дней (!)	»
» »	При выделении на поверхность трупа—годы	

Благоприятствующими моментами к длительному сохранению неспорозных патогенных бактерий в почве являются попадание их вместе с большим количеством органических веществ, например с faeces и т. п., и образовавшаяся в процессе эволюционного развития или случайно благоприятная комбинация микробов в ассоциации бактериальной флоры данной почвы. Наконец в известных случаях могут создаваться следующие условия, благоприятствующие предо-

ранению патогенных микробов от действия антагонистов: мельчайшие капельки жидкости, содержащие патогенных микробов, фиксируются на изолированных частицах почвы, и случайно попавшие патогенные микробы предохраняются таким образом от действия антагонистов.

Большой практический интерес представляет вопрос о выживаемости патогенных микробов в полях орошения, так как на последних часто устраиваются огороды, снабжающие город овощами. Ряд исследований, произведенных по этому вопросу, дал вполне благоприятные результаты. На полях орошения патогенные микробы быстро погибают. Например холерные вибрионы погибают через 3—48 часов (Stutzer, Дятлов). Так же недолго живут патогенные микроорганизмы при прохождении сточных вод через биологические фильтры. Факторы, обуславливающие быстрое их отмирание,—те же, что в почве, но только степень их действия значительно сильнее.

Интересна способность почвы усиливать спорообразование бактерий. Соука наблюдал в почве более быстрое спорообразование *B. anthracis*, чем в культурах (более сильная аэрация).

Таким образом, несмотря на ряд неблагоприятных для жизни патогенных микробов моментов, почва может иногда служить источником заразных болезней. Видимо этим обстоятельством объясняется оживление старой теории Pettenkofer в новом освещении (Wolter, Emmerich). Pettenkofer в свое время предложил общезвестную локалистическую теорию о влиянии состава, загрязнения почвы, изменения уровня почвенных вод (Grundwassertheorie) и пр. на распространение холеры и других эпидемических заболеваний. Pettenkofer считал, что микробы азиатской холеры и тифа усиливаются в своей вирулентности, находясь в почвах с низким уровнем почвенных вод и следовательно легко проникаемых для воздуха. Такие «созревшие» микробы вместе с пылью попадают в человеческий организм и вызывают заражение. При повышении уровня почвенных вод эпидемия слабеет, так как такого созревания не происходит.

Характер почвы также имеет значение для созревания и размножения микробов. Так, гравий и песок «предрасположены» к холере, глина и торф иммунны к ней и т. д.

Теория Pettenkofer сейчас совсем почти оставлена (по крайней мере в той форме, в какой она была первоначально предложена), так как она находится в резком противоречии с изложенными выше фактами и многочисленными эпидемическими наблюдениями. Но в измененной форме она оживляется в работах Emmerich, Wolter Gleitsman.

Emmerich, с одной стороны, пытается объяснить «иммунность» торфяных почв тем, что частицы ее сильно адсорбируют органические вещества из почвенной воды. Патогенные микробы в таких почвах, не находя достаточного количества питательных веществ, гибнут. Также указывает он на значение реакции почвы для выживаемости микробов. Затем для приведения теории Pettenkofer в согласие с новейшими данными Emmerich переносит место «созревания» патогенных микробов из глубины на поверхность почвы. Но все эти попытки не выдерживают критики, так как ни одному из сторонни-

ков локалистической теории не удалось провести основного доказательства правильности этой теории: получение усиления вирулентности например холерного вибриона в какой-либо живой (нестерильной) почве в экспериментальных условиях. Наоборот, доказано, что холерный вибрион как правило быстро гибнет.

Кроме того ряд вышеприведенных неблагоприятных условий для развития патогенных микробов в почве и невозможность выхода их на поверхность земли не позволяют признать за почвой роль важного фактора в возникновении эпидемий, как это делают сторонники обновленной теории Pettenkofer.

Теории Wolter и Gleitsmann о переходе сапрофитных микробов в человеческом организме в патогенные виды—*V. cholerae* as., *V. typhi* и др.—под влиянием происходящих из почвы миазмов являются совершенно фантастическими и спекулятивными умозрениями, стоящими в противоречии с рядом точно установленных микробиологических фактов.

Из отдельных микробов, встречаемых в почве, можно назвать следующие:

### **B. anthracis**

Существование «проклятых полей», на которых пасущийся скот регулярно заражается сибирской язвой, известно давно. Заслуга объяснения этого явления принадлежит Пастеру. Им обнаружены в таких местах палочки сибирской язвы, вынесенные наружу (тем или иным способом) из трупов погребенных здесь сибиреязвенных животных. Споры сибирской язвы в почве не только могут сохраняться, но даже размножаться. Благоприятствующими для этого моментами являются слабощелочная реакция среды и периодическое затопление таких мест (весенние разливы рек). С таких полей споры сибирской язвы могут попадать в запасы корма и т. п.

Кроме мест погребения сибиреязвенных животных может быть заражена палочками сибирской язвы почва пунктов, через которые проходит много скота для предварительного ветеринарного осмотра перед бойней.

Так например Углов и Миллер обнаружили в почве железнодорожной ветпримывочной станции (на станции производятся очистка и дезинфекция вагонов из-под скота, идущего в Ленинград, в случае обнаружения заразных животных) палочки сибирской язвы, сохранявшиеся в почве несмотря на дезинфекцию почвы негашеной известью.

Обнаружение спор сибирской язвы в почве сопряжено с трудностями: во-первых, выделение чистой культуры из посевов не легко из-за массы других микробов; во-вторых, заражение животного с целью вызвать сибиреязвенную септицемию не всегда удается из-за присутствия в почве патогенных спороносных анаэробов, губящих животное до того, как оно заболит сибирской язвой.

Отрицательный результат исследования почвы имеет лишь относительное значение.

При исследовании водосмов следует исследовать ил со дна их.

## Патогенные и условно патогенные анаэробы

Спороносные анаэробы—возбудители столбняка, газовой гангрены и ботулизма—являются постоянными обитателями почвы.

Zeissler и Rossfeldt исследовали на присутствие анаэробов 200 проб земли, взятых в 1917 г. на различных участках германского фронта. Частота нахождения отдельных видов была следующей:

Микробы	Процент нахождения
<i>B. Welchii</i> ( <i>perfringens</i> ) . . . . .	100
<i>B. sporogenes</i> . . . . .	80
<i>B. amylobacter</i> ( <i>tertius</i> ) . . . . .	70
<i>B. Novy</i> ( <i>oedematiens</i> ) . . . . .	45
Он же при употреблении специальной техники . . . . .	64
<i>B. tetani</i> . . . . .	27
<i>B. tetanomorphus</i> . . . . .	20
<i>B. cochlearis</i> . . . . .	13
<i>V. septique</i> . . . . .	8
<i>B. botulinus</i> . . . . .	6
<i>B. sphenoides</i> . . . . .	4
<i>B. hystoliticus</i> . . . . .	2

Данные Zeissler по отдельным анаэробам согласуются с довольно многочисленными работами английских, французских и американских ученых.

Sasaki в почве Средней Японии обнаружил при исследовании 160 проб.

	Процент нахождения
<i>B. Welchii</i> ( <i>perfringens</i> ) . . . . .	100
<i>B. putrificus venucosus</i> . . . . .	70,6
» » <i>tenuis</i> . . . . .	20,6
<i>Amylobacter</i> . . . . .	65
<i>B. Novy</i> ( <i>oedematiens</i> ) . . . . .	56,9
<i>Pararauschbrandbazillus</i> . . . . .	20,6
<i>B. sphenoides</i> . . . . .	18,7
<i>B. tetanomorphus</i> . . . . .	14,3
<i>B. tetani</i> . . . . .	10,6
Неопределенные анаэробы . . . . .	7

Он же при исследовании путем заражения животных обнаружил *B. tetanus* в 15 пробах из 40 (37,5%).

Все приведенные микробы в большей или меньшей степени могут при известных условиях вызвать заболевания.

Из других новых данных нахождения некоторых из указанных анаэробов назовем: обнаружение *B. tetani* в 30% проб пыли общественных мест и жилищ (Burnet). Данные о частоте нахождения *B. botulinus* приведены также в главе об исследовании консервов.

Присутствие сильно патогенных микробов в почве было известно (конечно без понимания причины ядовитости почвы) даже диким народам; так, некоторые из них заражали свои боевые стрелы втыканием их в болотистую почву (*le Dantes*).

Загрязнение почвы анаэробами тем сильнее, чем больше почва загрязняется экскрементами животных и человека. В 33% проб экскрементов встречается *B. tetani* (Tulloch). *B. botulinus* встречается реже—описаны лишь единичные находки (данные, собранные Wien-



berg). Что же касается до *B. perfringens*, то он представляет собой обычного обитателя кишечника человека и животного (по Chappmann на 1 г сухих faeces приходится до нескольких миллионов *B. perfringens*). Естественно, что он и встречается в 100% образцов загрязненной земли. Некоторые другие анаэробы также встречаются в кишечнике человека и животных, хотя и не так часто [*B. histolyticus* (Torrey и Kahn), *Clostridium butyricum* (Шукевич)].

*B. perfringens* и другие анаэробы, возбудители газовой гангрены (*B. Novy*, *B. histolyticus*, *V. septique*, *B. eedematiens*), могут вызвать заболевания лишь при определенных условиях, сводящихся главным образом к наличию анаэробных условий,—поэтому наиболее часто поражаются газовой гангреной глубокие раны, имеющие небольшое входное отверстие с сильно разможженными тканями (чаще на больших толстых мышцах конечностей).

При наличии соответствующих ран загрязнение их земель (например шрапнельные военные раны) очень часто ведет к развитию газовой гангрены: по Souligoux — у 14,1% из 707 раненых; по Teitz и Korbsch — у 4% и по Piequ  и Опокину — лишь 0,6%, но и последняя цифра велика, если вспомнить то колоссальное количество раненых, которых мы имели во время войны. Вообще же по Bier большинство ран военного времени загрязнено анаэробами (газовая же гангрена и столбняк развиваются далеко не всегда, а лишь при подходящих условиях). Это и понятно, если вспомнить, что главный возбудитель газовой гангрены есть постоянный обитатель почвы. При взрывах снарядов вместе с осколками летит и земля, заражающая раны. Далее условия походной жизни таковы, что даже в одежде были находимы споры анаэробов (Simond выделил 11 раз *B. perfringens* с одежды 62 раненых бельгийской армии). Таким образом при соответствующих условиях земля может быть причиной заболевания человека столбняком, ботулизмом и газовой гангреной.

Зараженность почвы различных стран указанными анаэробами еще недостаточно изучена, а вопрос этот представляет немалую важность для проведения соответствующих профилактических мероприятий. Выяснение анаэробной флоры разных местностей с выяснением серологических особенностей встречаемых микроорганизмов с моей точки зрения представляет очередную задачу, ибо только после такого обследования мы сможем приступить к выработке радикальных смесей профилактических и лечебных сывороток против анаэробных раневых инфекций.

Из непатогенных анаэробов в почве часто находятся *Clostridium putrificus*, *B. butyricus* и реже *B. cellulosos methanicus* и др.

### ***B. typhi* и *B. paratyphi***

*B. typhi* с достоверностью (находки были подтверждены реакцией агглютинации) были обнаружены в почве (L sener, Remlinger, Schneider, Ohlm ller и др.), много раз Lortet обнаружил *B. typhi* в иле озера.

Микробы группы паратифа *B* точно не идентифицировались, но можно предполагать среди них присутствие *B. paratyphi*, *B. Sch ttm ller* ввиду высокой агглютинируемости некоторых культур сывороткой *B. paratyphi*. *B. Sch ttm ller* обнаружены в 13 из 52 проб земли

ветпромывочной станции Угловым и Миллером (см. также *B. anthracis* в этой главе). Находки были сделаны в земле, обильно загрязненной навозом.

Выделение этих микробов из почвы встречает затруднение из-за массы микробов, могущих хорошо развиваться в накопительных для микробов этой группы средах. Поэтому отрицательные результаты имеют лишь относительное значение.

### ***V. cholerae asiaticae***

*V. cholerae asiaticae* был найден в 3 пробах из 64, взятых у сточных труб во время эпидемии 1909—1910 гг. в Ленинграде (Горовиц-Власова), а также в 14 пробах ила (из 110).

### **Прочие микробы**

*B. pestis* был обнаружен в почве лишь один раз (Iersen).

Кроме перечисленных патогенных видов в почве находят следующие относительно патогенные виды: *B. coli*, *Proteus vulgaris*, *B. cloacae*, *Staphylococcus*, *Streptococcus pyogenes*, *B. pyocyaneus*, *B. pneumoniae*.

При выделении патогенных микробов из почвы, в особенности таких вариабильных, как микробы группы *coli-typhus*, следует тщательно обследовать все культуры, которые хотя и не дают права их идентифицировать с патогенными видами этой группы, но по совокупности признаков близки к ним (например отсутствие аглютинации и т. п.). См. главу о воде—почвенные штаммы бактерий группы *coli-aerogenes*.

## **ПОКАЗАТЕЛИ ФЕКАЛЬНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ**

К таковым можно отнести *B. coli*, *B. perfringens* и др. Но микробы эти всегда присутствуют в почве населенных мест. Какие же количества их делают почву опасной в санитарном отношении и при каких условиях, еще не выяснено; поэтому определение *coli*-титра почвы и пр. имеет лишь относительную ценность. Для определения в почве количества содержания некоторых анаэробов можно попробовать титрование ее (посев нисходящих разведений почвенной «болтушки») в среду Wilson-Blair с выращиванием при 46° (ср. главу о воде).

В настоящее время никаких, даже ориентировочных, норм относительно показателей фекального загрязнения почвы не имеется. К получаемым результатам надо иметь индивидуальный подход и учитывать их только в связи с санитарной топографией местности.

## **ЗАДАЧИ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

Отсутствие данных о значении количества и качества сапрофитов почвы придает определению общего числа бактерий лишь относительную ценность. На практике можно пользоваться методом посева на чашки агара, так как этот метод открывает микробов, могущих иметь

санитарное значение, в то время как учет бактерий, не растущих на обычных средах, открываемых более сложными методами, не имеет значения для санитарной оценки почвы. Только учет количества и активности некоторых групп последних микробов может найти себе применение, например при оценке годности почвы для очистки мусора, кладбища и пр.

Определение coli-титра (а также и другие способы определения фекальных загрязнений) в связи с другими данными (химическое исследование, санитарно-топографическое) находят себе применение для практической оценки почвы.

Разработка вопроса о нормах (конечно ориентировочных, районных и пр.) является очередной задачей в этой области.

Пока главными обычными задачами анализа почвы является нахождение патогенных микроорганизмов. Из них главным образом *B. anthracis*, *B. typhi* и *B. paratyphi*, *B. tetani* и другие анаэробы раневых инфекций.

Горовиц на основании результатов своей работы по исследованию городской почвы Днепропетровска предлагает следующую предварительную ориентировочную схему<sup>1</sup>.

Качество почвы	Количество бактериальных колоний на агаре на 1 г почвы	Coli-титр в мг	Анаэробный титр в мг
Грязная . . . . .	миллионы	1—2	1—2
Умеренно-грязная . . . . .	сотни тысяч	50—1 000	до 1 000—2 000
Сравнительно чистая . . . . .	<10 000	>1 000	>1 000—2 000

В этой же работе Горовиц сделала ряд интересных наблюдений.

*Azotobacter* был обнаружен лишь в двух образцах совершенно чистой почвы, в загрязненной не был найден ни разу; также редко находились бактерии, разлагающие клетчатку (3 раза в 11 пробах).

Нитрифицирующие бактерии находились почти всегда. *B. coli* и анаэробы существовали в почве одновременно. Видимо источник их один и тот же.

Обнаружено значительно более быстрое отмирание *B. coli*, чем анаэробов, поэтому наличие последних при отсутствии *B. coli* говорит о давнем загрязнении.

Наблюдения Минкевича подтверждают данные Горовиц о значении *B. coli* и анаэробов как показателей фекального загрязнения воды. Минкевич не находил *B. coli* в девственных почвах полярной области, но и анаэробные находки были редки. На Кавказе часто при отсутствии *B. coli* в почве он находил много анаэробов. Эти факты

<sup>1</sup> Определение общего количества микробов производилось по старому методу.

находят себе объяснение в дезинфицирующем действии солнечного света и большей стойкости споровых анаэробов.

Определение планктона почвы может оказаться ценным подспорьем для составления характеристики почвы.

## МЕТОДИКА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЧВЫ

### Взятие проб

Взятая проба должна соответствовать средней пробе данного участка земли. Для этого берут из разных мест по возможности большее число отдельных порций и затем все перемешивают. Общий вес взятых проб должен быть не менее 5—10 кг. Из этого количества отсылают (после тщательного перемешивания) 0,5 кг, если только для целей химического анализа не требуется большее количество. Перед исследованием еще раз перемешивают и протирают через сито (2-миллиметровые отверстия) и тогда приступают к посеву.

Не следует упускать из виду, что наряду с поверхностными пробами очень важно взять пробы и из глубины.

Для взятия последних пользуются буравом Fränkel (рис. 8). Бурав имеет внутри полость, которая во время бурения остается закрытой (рис. 8, б). Когда бурав достигнет глубины, намеченной для взятия пробы, его поворачивают в обратную сторону; при этом полость открывается (рис. 8, а),—и в нее попадает земля. Поворотом в прежнее направление полость закрывается, и бурав извлекают из земли. Конечно при взятии проб буравом говорить о килограммах пробы не приходится,—ограничиваются значительно меньшими количествами. Взятые пробы помещаются в стерильные банки.

В случае отсутствия бурава или необходимости брать большое количество почвы пользуются просто лопатой. При этом вырывают яму и из стенки ее после удаления стерильным инструментом верхнего слоя берут пробы почвы стерильной лопаточкой.

По взятии пробы посев производится в возможно непродолжительном времени.

Для исследования на спороносных микробов пробы можно сохранять довольно долгое время (Zeissler исследовал пробы почвы, взятые в 1917 г., в течение 6 лет).

Пробы, взятые на различных глубинах, следует исследовать отдельно. Waksman рекомендует пробы, взятые в разных участках, исследовать отдельно.

### Определение общего количества микробов почвы

#### Посев на чашки агар

Настоящая методика имеет в виду определение лишь микробов, способных расти на обыкновенном агаре.



Рис. 8.  
Бурав Fränkel.

Доставленная в лабораторию проба просеивается через 2-миллиметровое сито. Из отсева отвешивается 1 г и взбалтывается со 100 см<sup>3</sup> водопроводной воды. Löbniß рекомендует брать 10 г почвы на 100 см<sup>3</sup> воды. Whittles для лучшего разделения скоплений бактерий и устранения до известной степени явлений адсорбции подвергает взвесь вибрационному встряхиванию в течение 5—10 минут. Для этого взвесь помещается в сосуд с целулоидным дном, которому сообщаются вибрационные удары молоточком электрического звонка.

Если нет возможности сконструировать такой прибор, то просто встряхивают с бусами (по Hiltner и Störmer надо встряхнуть 200 раз). После такой обработки взвесь отстаивается 10 минут.

Из отстоявшейся жидкости приготавливают различные разведения. Обычно приготавливают разведения: 1 : 1 000, 1 : 100 000 и 1 : 1 000 000.

Для этого берут 3 пробирки с 10 см<sup>3</sup> стерильной водопроводной воды каждая. В первую вносят 0,1 см<sup>3</sup> взвеси, перемешивают и свежей пипеткой переносят 0,1 см<sup>3</sup> во вторую пробирку; из нее 0,1 см<sup>3</sup> — в третью пробирку (подробности см. «Разведение молока»).

Для посева берут по 0,1 см<sup>3</sup> неразведенной взвеси из каждого разведения и производят посев каждого разведения на 3 чашки.

При пересчете на 1 г почвы мы будем иметь следующие количества:

1) 0,1 см <sup>3</sup> неразведенной взвеси соответствует	0,001	г (1 : 100)
2) 0,1 см <sup>3</sup> 1-го разведения . . . . .	0,00001	» (1 : 100 000)
3) 0,1 см <sup>3</sup> 2-го разведения . . . . .	0,0000001	» (1 : 10 000 000)
4) 0,1 см <sup>3</sup> 3-го разведения . . . . .	0,000000001	» (1 : 1 000 000 000)

При исследовании почвы из глубины сеют еще 1 см<sup>3</sup> неразведенной взвеси (0,01 г почвы—1 : 100).

Посевы производятся в расплавленную и остуженную до 42—43° твердую питательную среду, выращивание продолжается 7—10 дней при 22° (подсчет колоний—см. «Исследование воды и молока»).

Количество питательных сред, предложенных для анализа почвы, бесконечно велико. Это чрезвычайно затрудняет сравнение различных данных. Обычной средой является мясо-пептонный агар. Хорошие результаты дает прибавление глюкозы (1%) и лошадиной сыворотки (2%).

Из специальных сред можно указать среды Freed и Waksman (1922):

- |  |   |
|--|---|
| <p>1. Натральбуминный агар<br/>Воды 1 000 см<sup>3</sup><br/>Декстрозы 1,0<br/>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,5<br/>MgSO<sub>4</sub> 0,2<br/>Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> следы<br/>Яичного альбумина 0,25 (с прибавлением децинормального раствора NaOH до щелочной реакции по фенолфталеину)<br/>Агар-агара 15,0</p> | <p>2. Казеиновый агар—то же, но вместо альбумина добавляется 1 г казеина, растворенного в 8 см<sup>3</sup> децинормального раствора едкого натра</p> <p>3. Почвенный агар: почвы 1 кг, воды 1 л. Нагревать в автоклаве 30 минут. Фильтровать<br/>K 100 см<sup>3</sup> экстракта добавляют воды—900 см<sup>3</sup>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>—0,5 г, агар-агара—15 г,</p> |
|--|---|

к 100 см<sup>3</sup> экстракта добавляют воды—900 см<sup>3</sup>, K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>—0,5 г, агара—15 г;

pH всех этих сред после стерилизации должен быть равен 6,5.

Для учета разжижающих желатину видов применяют посев в желатину на чашки Петри. Количество таких видов дает представление о силе гнилостных процессов в почве.

В протоколах следует указывать род питательной среды, температуру и время выращивания.

Температура и сроки выращивания могут быть те же, что и для воды. Лучше всего при 22°—3—5 дней и при 37°—24 часа.

Для точности подсчета каждое разведение рекомендуется сеять не в одну, а в две-три чашки.

Вопрос об унификации методики исследования почвы является очередным—без нее невозможно сравнивать данные, полученные различными исследователями.

Для определения количества анаэробов употребляют следующий метод. Делают посев каждого разведения в две чашки (агар должен быть обязательно с глюкозой). Одну чашку ставят в аэробных условиях, другую—в анаэробных. Через 24 часа выращивания при 37° 48 час. анаэробно производят подсчет выросших колоний и ставят чашки в обратные условия, т. е. чашку, выращенную в аэробных условиях,—в анаэробные и наоборот. Тогда прирост числа колоний в первой чашке дает представление о количестве абсолютных анаэробов, прирост во второй—о количестве абсолютных аэробов. Разница же между числом колоний, выросших в первой чашке при аэробном выращивании, и количеством абсолютных аэробов дает представление о числе факультативных анаэробов и аэробов.

Пр и м е р. Посеяно по 0,00001 г почвы.

№ чашки		Условия и срок выращивания	Число колоний
1	<i>a</i>	24 часа аэробно . . . . .	520
1	<i>б</i>	24 часа аэробно, потом 48 часов анаэробно . . . . .	830
2	<i>в</i>	48 часов анаэробно . . . . .	640
2	<i>г</i>	48 часов анаэробно, потом 24 часа аэробно . . . . .	770

Число абсолютных анаэробов=830—520=310×100 000. Число абсолютных аэробов=770—640=110×100 000. Число факультативных

$$\frac{830 + 770}{2} - (310 + 110) = 800 - 420 = 380 \times 100\,000.$$

Для вычисления всего количества микробов берем среднее между данными окончательного подсчета обеих чашек.

Конечно этот метод обладает всеми недостатками обычных методов определения числа аэробных бактерий путем посева. Кроме того неточность его усугубляется тем, что некоторые факультативные анаэробы (аэробы) появляются позже 48 часов, и это вносит ошибку в подсчет абсолютных анаэробов и аэробов. Но приблизительное представление этот метод может дать.

Посевы в анаэробных условиях следует выращивать в аппарате, из которого кислород удален химическим или физическим способом

(метод Fortner не годится, так как при нем успевают вырасти колонии некоторых абсолютных аэробов, а также по техническим соображениям).

Для ориентировки относительно количества некоторых анаэробов можно применить метод посева различных разведений в среду Wilson-Blair нормальной концентрации (см. главу о воде).

Полученные при этом методе результаты конечно весьма условны. Вообще методы определения в почве количества анаэробов еще не разработаны и нуждаются во всесторонней проверке.

Ввиду невозможности учета при посеве всех микробов рекомендуется употреблять метод Сопп и Виноградского.

### Метод непосредственного учета бактерий под микроскопом (Сопп и Виноградский)

Метод основан на подсчете бактерий в различных фракциях, чем несколько устраняется влияние адсорбции на результаты счета (адсорбированные бактерии исчезают из поля зрения). Окраска производится кислой краской, слабо окрашивающей частицы почвы и ее колоиды и хорошо — тела бактерий, эритрозином или эозином.

Образец почвы предварительно разделяется на отдельные фракции по величине частиц. 1 г просеянной почвы вносят в пробирку с 4 см<sup>3</sup> стерильной воды. Встряхивают 3 минуты. Дают отстояться в течение 1/2 минуты. Декантируют в центрифужную пробирку. К оставшемуся осадку добавляют 3 см<sup>3</sup> воды, взбалтывают 1 минуту и отстаивают 30 секунд. Отстоявшуюся жидкость сливают в центрифужную пробирку. Эту операцию повторяют еще раз.

Трижды промытый осадок в основной пробирке назовем осадком А.

Осадок, получившийся во время производства вышеописанных манипуляций в центрифужной пробирке, назовем осадком В. Жидкость над осадком назовем взвесью а. Половину ее переносят в новую центрифужную пробирку и центрифугируют, пока она не перестанет проясняться. Осадок в этой пробирке назовем осадком С, а жидкость под ним — взвесью с.

Каждый осадок и взвесь распределяются на поверхность в 1 см<sup>2</sup> предметного стекла.

Осадки А и В для закрепления обливаются 1% горячим агаром, а осадок С — 0,1% холодным.

Препараты взвесей просто высушиваются.

Готовые препараты фиксируют спиртом (96° — 5—10 минут), окрашивают карболовым эритрозином [5,0 эритрозина + 100 см<sup>3</sup> 5% карболовой воды (Худяков)], промывают водой (длительно).

Для количественного учета взвешивают предметные стекла до и после нанесения на них соответствующих фракций. Разница в весе есть вес частицы соответствующей фракции. Затем производят подсчет непосредственно под микроскопом (технику см. глав «Молоко»). Полученное количество пересчитывают на 1 г.

Например в препарате найдено 1 000 микробов. Вес частицы 0,5 мг, значит в грамме — 2 000 000 бактерий. Таким путем определяют количество бактерий в грамме каждой фракции.

Затем высушиванием и взвешиванием определяют весовое соотношение различных фракций в 1 г почвы и в конце концов при помощи полученных данных определяют число бактерий в 1 г цельной почвы.

Метод этот определяет значительно большие количества бактерий на 1 г почвы, чем метод посева, но сложность метода и невозможность при помощи него учитывать все бактерии (определяются главным образом зооглейные микробы) заставляют нас искать новых методов для учета всего количества бактерий в почве.

### Определение химической активности почвы

Определение химической активности почвы имеет целью определить обезвреживающую и минерализующую (самоочищение) способность почвы, зависящую от количества и химической активности микроорганизмов, участвующих в круговороте азота, углерода, фосфора и пр. Здесь мы приведем методы определения активности почвы в наиболее важных направлениях.

Каких-либо показателей количественного содержания тех или иных микроорганизмов в почве, обладающей достаточной минерализацией для обезвреживания, не имеется. Выбор почвы производится путем сравнительного испытания проб с различных участков. Понятно выбираемый участок должен обладать почвой, способной в практически приемлемые сроки производить нужные химические процессы.

Для испытания почвы предложен ряд методов.

Реми предложил определять силу химической активности почвы путем ее посева в ту или иную среду и химического анализа через определенный срок образовавшихся продуктов. Например для определения активности почвы в отношении разложения мочевины почву засевают в среду:

Водопроводной воды . . . . .	1 000,0
Мочевины . . . . .	50,0
Уксуснокислого натрия . . . . .	10,0
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ . . . . .	9,25

и определяют количество образовавшегося амиака.

Hiltner и Störmer предложили метод количественного определения микроорганизмов титрованием.

Принцип этого метода заключается в следующем. Берут какой-либо элективный для определенного вида бактерий питательный раствор (например для определения количества *Azotobacter*—раствор Бейеринга) и заражают ряд колб ниспадающими количествами земли или разведениями почвенной болтушки.

Наименьшее количество почвы, давшее еще характерный процесс, считается титром данного микроба.

Если например минимальное количество земли, вызвавшей прирост азота в маннитной среде Бейеринга, равно 0,001 мг, то следовательно в 1 г почвы содержится минимум 1 000 000 экземпляров *Azotobacter*. Естественно, что и этот способ не дает точного представления, так как количество микробов (причина—наличие зооглей) может быть большим, чем это определяет опыт. Преимущества метода за-



ключаются в возможности учета не только количественной, но и качественной стороны бактериальной флоры почвы, важной для сельского хозяйства.

Все эти методы страдают тем недостатком, что процессы при них происходят в искусственных условиях, что лишает возможности признать активность почвы, определенную этими методами, соответствующей таковой в естественных условиях.

В последнее время Дианова и Ворошилова предложили для приближения условий опыта к естественным заменить водную среду песчаной.

Waksmann широко применяет метод культивирования в естественной почве. Такие почвенные культуры точнее всего воспроизводят естественные условия для изучаемых микроорганизмов.

Все эти методы могут быть употребляемы для определения активности и учета количества разных видов бактерий: 1) гнилостных, 2) разлагающих мочевины, 3) нитрифицирующих, 4) денитрифицирующих, 5) фиксирующих азот, 6) разлагающих клетчатку, 7) бродящих и др., и имеют значение для изучения способности почвы к самоочищению.

### **Определение биохимической активности почвы количественным химическим анализом**

#### **Определение амонификационной силы почвы**

Существующие методы определения амонификации почвы определяют химическую активность в нужном направлении всей ассоциации микробов данной почвы, стараясь при постановке опыта поставить его в условиях, наиболее приближающихся к естественным. Waksmann определяет амонификацию следующим образом.

К 100 г свежей почвы, помещенной в стеклянном сосуде, добавляется и тщательно перемешивается 1 г кровяной муки (содержит обычно около 11% азота). Сосуды покрываются стеклянной пластиной и выдерживаются 7 дней при температуре 30°. Все это время влажность поддерживается неизменной; через определенные сроки определяется аммиак перегонкой с MgO или  $MgCO_3$ .

По Bengtsson лучше извлекать аммиак из почвы повторно 0,5 N раствором KCl.

25 г почвы растираются несколько минут в 100 см<sup>3</sup> 0,5 N KCl, фильтруются, осадок вновь обрабатывается раствором KCl—и так 7—10 раз.

Смесь всех фильтров перегоняется с MgO, и дестилат исследуется на  $NH_3$ .

Кроме почвенного метода Waksmann пользуется и водным.

К 100 см<sup>3</sup> 1% раствора пептона в дистиллированной воде добавлялось 10,0 почвенной взвеси, и посевы выдерживались 3—7 дней при температуре 28—30°.

$NH_3$  определялся также перегонкой с MgO.

При желании определить количество гнилостных микробов почвенной болтушкой засевают агар с добавлением углекислого свинца до получения мутной среды. Количество образовавшихся черных

колоний соответствует числу микробов, образующих  $\text{H}_2\text{S}$ , каковые с известной долей вероятности можно приравнивать к числу сапрогенных микробов.

### И з у ч е н и е н и т р и ф и ц и р у ю щ е й с п о с о б н о с т и п о ч в ы

100 г исследуемой почвы тщательно смешиваются с раствором сернокислого аммония в количестве, эквивалентном 30 мг, увлажняются до  $\frac{2}{3}$  водой и выдерживаются в стеклянных сосудах, покрытых чашками Петри при  $27^\circ$  в течение 30 дней. Ежедневно добавляется вода для компенсации испарившейся. По истечении 30 дней в пробе определяется количество образовавшихся нитратов, по каковому можно судить о степени нитрифицирующей способности почвы.

Для изучения наличия и активности (вне зависимости от среды) нитрифицирующих микроорганизмов следует употреблять песчаные культуры. Опыт с песком производится следующим образом: к 100 г промытого песка добавляется 0,21 г  $\text{CaCO}_3$ , песок помещается в колбы Эрленмейера, увлажняется  $15 \text{ см}^3$  раствора  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1 г  $\text{MgSO}_4$ , 0,5  $\text{FeSO}_4$ ,  $7\text{H}_2\text{O}$ , 1 000,0 воды. Приготовленные таким образом колбы с песком стерилизуются в автоклаве. После стерилизации добавляются  $15 \text{ см}^3$  раствора сернокислого аммония, эквивалентного 30 мг, и колбы заражаются 10 г исследуемой почвы и помещаются при  $27^\circ$  на 30 дней, после чего определяется количество нитратов, образовавшихся из амонийной соли.

Определение количества нитратов в почве на практике встречает ряд затруднений, вызывающих ошибки при обычных методах исследования. Van Wijk, проверяя ряд способов, предложил пользоваться, как наиболее точным, видоизмененным способом Burgess.

Этот способ заключается в следующем: 100 г почвы высушиваются и взбалтываются с  $200 \text{ см}^3$  воды, к которой добавлено 0,5 хлороформа (вода должна быть проверена на содержание нитратов) в течение 90 минут.

Потом прибавляется 4 г  $\text{CaO}$  и вновь взбалтывается 30 минут, фильтруется, и к фильтрату добавляется 10%  $\text{NaOH}$   $15 \text{ см}^3$ , и фильтрат выпаривается до  $\frac{1}{3}$  объема. Затем охлаждается и смывается водой в колбу Эрленмейера размером в  $300 \text{ см}^3$  с отметкой на уровне  $150 \text{ см}^3$ . В колбу кладутся три полоски алюминия длиной каждая 15 см и шириной 0,5 см с общим весом в 1,5 г. Уровень доводится до  $150 \text{ см}$ .

В отверстие колбы прилаживается сокслетовская трубка, заполненная ватой, на которую наливается  $\text{N}/10 \text{ NaOH}$ , и колба оставляется 20 час. при комнатной температуре ( $20^\circ$ ). Затем сливают жидкость из трубки в колбу, и содержимое переносится в дистилляционную колбу емкостью в  $500 \text{ см}^3$ , к ней добавляются 10%  $\text{NaOH}$ — $10 \text{ см}^3$  и небольшое количество зернистого цинка. Дестилируют, и дестиллят собирают в колбе с  $\text{N}/10 \text{ HCl}$   $10 \text{ см}^3$ , пока его не наберется  $200 \text{ см}^3$ .

Затем в дестилляте определяется  $\text{NH}_3$  колориметрически реактивом Несслера, и делаются соответствующие перерасчеты. Сила нитрифицирующей способности почвы, учитываемая по скорости и степени превращений аммиачных солей в нитраты (и количество нитробактерий и нитробактерий, определяемое методом титрования), дают

возможность охарактеризовать пригодность почвы для обезвреживания мусора и пр.

Но каких-либо общих числовых показателей не разработано, да и вряд ли могут быть выработаны общие абсолютные показатели. В каждом конкретном случае необходимо, выбирая тот или иной участок земли, сравнивать их нитрифицирующую силу и, выбрав самую активную почву, поставить на ней эксперимент для выяснения хода процесса в естественных условиях для точного выяснения его рентабельности.

### Определение денитрифицирующей силы почвы

Хотя, казалось бы, процесс денитрификации как обратный нитрификации и восстанавливающий соли азотной кислоты до солей азотистой кислоты и до газообразного азота не имеет значения для санитарного дела, так как он не отражается на минерализации отходов, но все же как появление азотистой кислоты из азотной может дать неправильное представление о работе нитробактерий, и кроме того изучение этого явления представляется важным, так как оно уменьшает степень плодородия почвы, т. е. понижает рентабельность использования участков земли, употребляемых для обезвреживания мусора, для огородных и других культур. Поэтому представляется небезынтересным привести методику исследования денитрифицирующей силы почвы.

### Метод Barthel

25 г почвенной взвеси вносится в 50 см<sup>3</sup> видоизмененного раствора Giltay следующего состава:

1. Воды дистиллированной . . . . .	250 см <sup>3</sup>
Азотнокалиевой соли . . . . .	3 г
Аспарагина . . . . .	1 »
2. Воды дистиллированной . . . . .	500 см <sup>3</sup>
Лимоннокислого натрия . . . . .	5 г
Фосфорнооднокалиевой соли . . . . .	2 »
Сернокислого магния . . . . .	2 »
Хлористого кальция . . . . .	0,2 »
Полуторахлористого железа . . . . .	следы

Растворы 1 и 2 сливаются вместе и доливаются до 1 л. Посевы выдерживаются при 26° до 30 дней, все время контролируя на присутствие азотной кислоты, и определяют время ее исчезновения.

Следует иметь в виду, что кислая реакция задерживает процессы нитрификации.

Koch и Pettit проводили опыт в песчаных культурах.

Для этого к 5 частям почвы добавлялась 1 часть песка и затем азотнокалиевой соли 0,2%, глюкозы 1% и воды до 18% общей влажности.

Культуры выдерживаются при 26°.

### Определение способности разлагать клетчатку

Микроорганизмы, разлагающие клетчатку, имеются во всех почвах, и исследование имеет целью определить, есть ли налицо опти-

мальные условия среды для размножения и проявления химической активности соответствующих микроорганизмов.

Главнейшим условием будет:

1. Достаточное количество полезного азота, так как опыты Charpentier и авторов, проверявших и дополнявших его наблюдения, показали, что интенсивность и полнота разложения клетчатки зависят от содержания в почве азота, главным образом в виде амонийных солей (а также от наличия солей калия, фосфатов, углекислой извести). В связи с этим выявляется необходимость присутствия бактерий, вызывающих разложение органического азота до аммиачного. Таким образом определение способности почвы разлагать клетчатку указывает еще на ту или иную картину физико-химических условий и микробиологической активности, определяющих способность почвы к разложению органического азота и ее плодородие.

Методика определения способности разлагать клетчатку заключается в следующем: 50 г высушенной исследуемой почвы насыпается равным слоем на дно эрленмейеровской колбы в 300—400 см<sup>3</sup> так, чтобы осталась непокрытой  $\frac{1}{5}$  поверхности дна. На это место приливается дестилированная вода почти до полного насыщения.

На поверхность почвы накладывают две полоски фильтровальной бумаги 3×0,5 см и тщательно прижимаются. Наблюдение ведется до разрушения полосок при 26°, все время поддерживается влажность.

Сроки могут быть самыми различными—от нескольких дней до нескольких месяцев.

При длительном сроке разрушения выясняется влияние прибавления к 100 г почвы 0,1 NaNO<sub>3</sub> или 0,2 г CaCO<sub>3</sub> плюс 0,05 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> плюс 0,025 MgSO<sub>4</sub> на скорость процесса; этим может быть установлено значение в замедлении процесса недостатка полезного азота и минеральных солей.

По Waksmanн фильтровальную бумагу можно вводить в измельченном виде в количестве 1 г, а по прошествии 15 дней определяется количество разложившейся клетчатки по разнице количества образовавшейся углекислоты в пробе с клетчаткой и без нее. Более точно, но и более громоздко определение прямым химическим методом Barthel и Bengtsson.

## Количественный учет групп почвенных микроорганизмов по Hiltner и Störmer.

Различные разведения почвенной болтушки засевают в среде следующего состава:

а) для обнаружения гнилостных, амонифицирующих микроорганизмов—бульон с кусочками вареного белка—среда Ашальма.

Определение образующегося аммиака и его солей производят в углублении фарфоровой пластинки. Сперва наносят несколько капель реактива Несслера и затем равный объем испытуемой культуры. Быстрое выпадение кирпично-красного осадка указывает на присутствие аммиака.

Бульон без аммиака дает желтое окрашивание и лишь иногда зеленовато-бурый осадок.

# б) Для обнаружения н и т р о з о б а к т е р и й:

Дестилированной воды . . . . .	1 000,0
Серноамониевой соли $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . . . . .	1,0
Фосфорнокислого калия $(\text{KH}_2\text{PO}_4)$ . . . . .	1,0
Серномагниевой соли $(\text{MgSO}_4)$ . . . . .	0,5
Сернокислой закиси железа $(\text{FeSO}_4)$ . . . . .	0,4

Добавить углекислой магнезии  $(\text{MgCO}_3)$  или кальция  $(\text{CaCO}_3)$ , выращивать при 25—30°. Процесс продолжается 1—4 недели. Для обнаружения появления солей азотистой кислоты можно применить способ Тромсдорфа: в углубление фарфоровой пластинки наливают несколько капель серной кислоты (1 : 3) и несколько капель иодноцинкового крахмального клейстера (приготовление см. Х л о п и н, Анализ питьевых и сточных вод, стр. 108, изд. 1930 г.) и затем петлю или каплю культуры. При наличии солей азотистой кислоты появляется синее окрашивание. Или проделывают реакцию с дефениламином: в углубление белой фарфоровой пластинки наливают несколько капель концентрированной серной кислоты, добавляют щепотку дифениламина, и платиновой петлей или пипеткой вносят небольшое количество культуры на упомянутую питательную среду.

В случае положительной реакции появляется темносиняя окраска, явственно видная на фоне белой пластинки.

## в) Для обнаружения н и т р о б а к т е р и й:

Дестилированной воды . . . . .	1 000,0
Азотистонариевой соли $(\text{NaNO}_2)$ . . . . .	1,0
Углекислого натрия $(\text{Na}_2\text{CO}_3)$ . . . . .	1,0
Фосфорнокислого калия $(\text{KH}_2\text{PO}_4)$ . . . . .	0,5
Хлористого натрия $(\text{NaCl})$ . . . . .	0,5
Сернокислой закиси железа $(\text{FeSO}_4)$ . . . . .	0,4
Сернокислой магнезиевой соли $(\text{MgSO}_4)$ . . . . .	0,3

П р и м е ч а н и е. Для сред, предназначенных для долгого хранения,  $\text{NaNO}_2$  прибавляется *ex tempore*.

Условия выращивания те же. Для обнаружения появления солей азотной кислоты: в углубление фарфоровой пластинки наливают несколько капель исследуемой жидкости и затем вдвое больше по объему концентрированной серной кислоты. По охлаждении смеси бросают кристаллы бруцина. Розовая окраска жидкости, переходящая в желтую, указывает на присутствие солей азотной кислоты. Этот способ дает возможность определить соли азотной кислоты в присутствии солей азотистой кислоты.

Более надежные результаты в ответственных анализах дает определение солей азотной кислоты после удаления солей азотистой кислоты прибавлением мочевины, подкисленной серной кислотой. Через 3—5 часов при стоянии в комнатной температуре соли азотистой кислоты разлагаются с выделением газообразного азота.

## г) Для обнаружения р а з л а г а ю щ и х м о ч е в и н у бактерий:

Водопроводной воды . . . . .	1 000,0
Мочевины . . . . .	50,0
Уксуснокислого натрия . . . . .	10,0
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ . . . . .	0,25

Появление аммиачных солей определяется реактивом Несслера в углублении фарфоровой пластинки.

д) Для обнаружения денитрифицирующих бактерий:

Дистиллированной воды . . . . .	1 000,0
Глюкозы . . . . .	2,0
Лимонной кислоты . . . . .	5,0
$KNO_3$ . . . . .	2,0
$MgSO_4$ . . . . .	2,0
$KH_2PO_4$ . . . . .	2,0
$CaCl_2$ . . . . .	0.2
$Fe_3Cl_6$ . . . . .	следи

Обнаружение появления солей азотистой кислоты и аммиака производится вышеуказанными реакциями.

Газообразный азот определяется по образованию пены.

Таким образом для титрования по Hiltner-Störmer засевают ряд пробирок с соответствующей средой различными количествами почвенной болтушки (сточной воды), например 1,0; 0,1; 0,01; 0,0001; 0,00001 и т. д., и после выращивания в термостате 3—7 дней и более соответствующими реакциями определяют, в какой из пробирок начался специфический для искомой группы микроорганизмов процесс. Наименьшее количество почвы (или сточной воды), давшее при посеве нужный процесс, мы можем считать титром данной группы микроорганизмов. При производстве химических реакций не следует забывать необходимость контрольных проб с незасеянной средой и тщательную проверку реактивов.

## Методы выделения чистых культур бактерий, участвующих в круговороте азота

Для накопления искомого вида микроорганизма исследуемый материал засеивается в соответствующую питательную среду. Через несколько дней делается пересев на свежую среду, после ряда пассажей делается пересев на твердую питательную среду подходящего состава.

1. Для гнилостных на обыкновенный агар (лучше с 1% глюкозы и 0,5 лошадиной сыворотки).

2. Для нитрозо- и нитробактерий употребляют кремневый студень Виноградского или гипсовые пластинки Омелянского, пропитанные средой соответствующего состава.

3. Для разлагающих мочевины бактерий употребляют обыкновенный агар с мочевиной 1—2%.

4. Для денитрифицирующих бактерий, растущих на обыкновенном агаре,—последний, а для не растущих—агар с селитрой и  $NaNO_2$  (0,1%).

Для накопительной культуры истинных денитрификаторов можно рекомендовать среду v. Iterson:

$K_2HPO_4$ . . . . .	0,05
$KNO_3$ . . . . .	0,25
Фильтр. бумаги, нарезанной полосками . . . . .	2,0
Водопроводной воды . . . . .	100,0

После посева заливание поверхности вазелиновым маслом.

Для обнаружения присутствия азотобактера на дно конической колбы наливают тонким слоем питательную среду состава:

Водопроводная вода . . . . .	100,0
Маннит . . . . .	0,2
$K_2HPO_4$ . . . . .	0,002

Среда засеивается исследуемой землей и выращивается при 27—30°. Азотобактер растет в виде пленки.

Повторные перевивки дают возможность получить чистую культуру.

Из жидкой питательной среды можно сделать высевы на агаре, сваренном на вышеприведенном растворе, но колонии получаются с трудом. Определяя прирост азота, мы точно можем установить присутствие азотфиксирующих микроорганизмов.

В выросших посевах изучают колонии, выделяют чистые культуры. Для определения их изучают подробно морфологию и физиологию и устанавливают принадлежность к тому или иному виду по таблицам, помещенным в конце книги, или по *Bergey, Determinative Bacteriology*. Для изучения отношения к углеводам можно рекомендовать применение синтетической среды Омелянского следующего рецепта:

$K_2HPO_4$ . . . . .	1,0
$(NH_4)_2PO_4$ . . . . .	1,0
$MgSO_4$ . . . . .	0,5
$CaCl_2$ . . . . .	0,1
$NaCl$ . . . . .	следи
$FeSO_4$ . . . . .	следи
Дистиллированной воды . . . . .	1 000,0
Углевода или соли органической кислоты . . . . .	5,0
Индикаторы: лакмус, азолитмин, бромтимолблау .	

Применение всех этих методов для санитарной оценки почвы еще находится в стадии разработки, и поэтому пока нельзя дать окончательной оценки их практической ценности.

В заключение следует еще раз подчеркнуть, что сложность биологических соотношений, устанавливающихся в почве, требует особенно продуманной методики лабораторного исследования для определения химической активности почвенных микроорганизмов.

Следует всегда устанавливать условия, наиболее близкие к естественным, и учитывать как химические, так и физико-химические условия среды.

В настоящее время помимо изучения биохимической активности почвы ставится проблема изучения видов микроорганизмов, производящих тот или иной процесс, и выяснение возможности путем внесения в почву тех или иных химических веществ и микроорганизмов создать и соответствующие условия для жизнедеятельности и соответствующую микрофлору почвы, при которых мы могли бы получить нужные нам превращения возможно более полно и в возможно короткий срок.

Проф. Добровольский в журнале «Гигиена и эпидемиология» (1930, № 8—9) приводит программу плана бактериологического исследования при экспериментальных работах по обезвреживанию мусора на Волковских полях ассенизации в Ленинграде.

Программа эта следующая:

1. Прямой метод Виноградского (объемный), несколько упрощенный Шульгиной и Степановой (Ж. с.-х. микробиологии, Б. И. О. А., 1928, III).

2. Подсчет колоний, разжижающих желатину, и подсчет общего количества колоний, выросших на мясо-пептонном агаре в аэробных условиях. Для посева берут взвесь 0,01 г почвы в 10 см<sup>3</sup> воды (встряхивание 5 минут). Одна капля такой взвеси разводится 1 см<sup>3</sup> воды, и из разведения сеют 1—2 петли в 10 см<sup>3</sup> расплавленной желатины или агара. Каждый образец сеется на 2 чашки желатины и 2 чашки агара.

3. Посев в мясо-пептонный бульон для обнаружения бактерий, образующих при гниении амиак (лакмусовая бумажка), индол (определение по Berthelot, см. стр. 92), сероводород (бумажка с уксуснокислым свинцом), меркаптан (позеленение асбестовой ваты, пропитанной тиосерной кислотой, помещенной под бульоном).

4. Определение содержания растворимых белков (реакция с сульфосалициловой кислотой).

Определение глубины распада белков (реакция с формалином)—см. Омелянский, Практическое руководство по микробиологии.

5. Обнаружение бактерий, разлагающих мочевины.

6. Обнаружение нитрозо- и нитробактерий.

7. Обнаружение денитрифицирующих микроорганизмов.

8. Обнаружение фиксаторов азота на среде Бейеринка и *Cl. Pasteurianum* на среде Виноградского.

9. Определение разложения жира по методу Sontag и Kahn.

10. Определение брожения клетчатки:

а) аэробного,

б) анаэробного

по Виноградскому.

### Определение соли-титра почвы

Определение соли-титра почвы производится аналогично определению соли-титра воды.

Для получения разведения приготавливают взвесь из 1 г почвы и 10 см<sup>3</sup> физиологического раствора, как было указано при описании способа учета количества микробов почвы посевом.

После отстаивания из взвеси (пробирка № 1) приготавливают ряд разведений: пробирка № 2 — 0,1 см<sup>3</sup> из пробирки № 1 + 10 см<sup>3</sup> физиологического раствора; пробирка № 3 — 0,1 см<sup>3</sup> из пробирки № 2 + 10 см<sup>3</sup> физиологического раствора и т. д. (подробности методики приготовления разведений см. выше).

Посев производится в ряд пробирок с разведенной средой Виг в количестве 0,1; 0,01... 0,00000001 г земли (1 и 0,1 см<sup>3</sup> неразведенной и 3 см<sup>3</sup> разведенной взвеси).

Посевы ставятся при 46° и исследуются далее, как и при определении соли-титра воды.

Точно так же все замечания относительно методики определения последнего относятся равным образом и к данному исследованию.



## Обнаружение *B. anthracis*

Среднюю пробу земли засевают (Gruber) в бульон и ставят на 24 часа при 37° в анаэробные условия. Затем прогревают посев при 70° в течение 30 минут для убивания патогенных анаэробов, проросших за это время из спор.

Прогретый посев ставят в термостат при аэробных условиях на 24 часа, после чего из него делают высевы на обыкновенный агар (6 и более чашек Петри) и заражают животных.

Во избежание гибели нестойких разновидностей *B. anthracis* и их спор рекомендуется параллельно сделать посев и заражение мышей осадком после центрифугирования непрогретой почвенной болтушки (30—50 г почвы на 100—150 см<sup>3</sup> физиологического раствора).

Дальнейшее исследование и идентификация—см. исследование мяса на *B. anthracis*.

Озол рекомендует применять для выделения культур *B. anthracis* метод смывов. Чашки с посевом исследуемого материала смываются 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора, и смывом заражается свинка. Метод этот по данным автора благодаря тому, что в таком смыве будут преобладать спороносные аэробы, а из них патогенными будут лишь палочки сибирской язвы, дает возможность вдвое увеличить число положительных результатов.

## Метод Frei и Nagai для обнаружения в почве кислотоупорных бактерий

1 г почвы засеивается в колбы с 60 см<sup>3</sup> среды Söhen, в которую после стерилизации клались кусочки парафина. Инкубация 2—7 дней и исследование мазков с нижней поверхности кусочков парафина на кислотоупорных микробов. Через 7—14 дней рост виден невооруженным глазом. Рецепт среды Söhen:

1. Воды . . . . .	1 000,0
2. $K_2HPO_4$ . . . . .	0,5
3. <i>Magnesium ustum</i> . . . . .	0,2
4. Хлористого аммония . . . . .	0,5
5. $Na_2CO_3$ . . . . .	следы
Стерилизовать 30 мин. при 120°.	

## Обнаружение анаэробов

### *B. tetani*

Способ Fildes (1925). 30—50 г почвы, растертой в стерильной ступке с физиологическим раствором, засеиваются в колбу бульона, полученного ферментным перевариванием мяса с печенью. Поверхность заливается вазелиновым маслом (см. гл. VII). Через 2—4 дня из посева делается высев на конденсационную воду косоуго кровяного агара. Посев ставится в анаэробные условия.

При таком посеве *B. tetani* быстро всплывает до верха агара, в то время как другие микробы остаются в конденсационной воде или всплывают на небольшую высоту. Из верхних отростков роста можно выделить чистую культуру (ср. этот способ со способом Шукевича

для выделения *Proteus vulgaris*). В случае присутствия в земле *Proteus v.* этот метод не годится и требует предварительного прогревания для убивания последнего, также всползающего до верху пробирки.

Hall и Petterson предложили накапливать *B. tetani* из почвы в сахарном бульоне, налитом в картофельные пробирки, выше пережвата которых помещен кусочек мрамора. Через 2—4 дня из этой среды делается высеv на чашки с кровавым агаром (помещать в анаэробные условия или работать по методу Fortner).

Для отделения *B. tetani* от неспороносных видов можно употребить нагревание в течение 45 минут при 80° (Kitasato), но следует указать, что прогревание ослабляет токсическую способность *B. tetani*, что может повести в дальнейшем к затруднениям при идентификации.

Полученную тем или иным способом культуру проверяют по ее биохимическим и серологическим свойствам. Но главным решающим опытом для диагноза будет заражение токсином культуры белой мыши, погибающей при явлениях клонических судорог (столбняк). Контрольная мышь (получившая инъекцию антитоксина) должна оставаться здоровой.

В качестве материала для испытания на токсичность следует брать 7-суточную культуру первичного накопительного посева и вводить ее в количестве 0,5—1 см<sup>3</sup> подкожно в лапку.

В случае необходимости аналогичным образом испытывают на токсичность выделенные чистые культуры.

Sasaki указывает на меньшую надежность выделения *B. tetani* посевом по сравнению с заражением мыши непосредственно почвой. Следует только иметь в виду необходимость во избежание гибели мышей или свинок от газовой гангрены вводить предварительно антигангренозную сыворотку (понятно, без антитетанического антитоксина).

## *B. botulinus*

Растирают 20—50 г земли в стерильной ступке, смешивают с 250 см<sup>3</sup> физиологического раствора, устанавливают рН=7,0, нагревают в течение 1 часа при 80°, добавляют 100 см<sup>3</sup> бульона, приготовленного по рецепту, указанному в гл. VII, выкачивают воздух или вместе со 100 см<sup>3</sup> бульона добавляют около 100 г стерильной вареной печени, нарезанной кусочками, и быстро после нагревания и прибавления бульона заливают поверхность посева вазелином.

Посев выдерживают в термостате 10 дней при 35°. Центрифугируют. Испытывают полученную культуру на содержание токсина внутрибрюшинной инъекцией мышам по 0,3 см<sup>3</sup> культуры..

Осадок засевают на чашки кровавого агара в анаэробных условиях или в высокий слой сахарного агара (подробности см. гл. VII).

## *B. perfringens* и другие анаэробы—возбудители газовой гангрены

Эти анаэробы выделяются обычной методикой. Сперва делается накопительный посев, как и при выделении *B. botulinus*, и из него делается высеv на возможно большее количество чашек Петри в ана-

аэробных условиях и пробирок с высоким сахарным агаром (последовательные посевы). Полученные колонии исследуются микроскопически, и из них делается высев чистых культур.

Выделенные культуры идентифицируются, причем главным решающим моментом для патогенных видов является опыт на животном.

Для обнаружения и количественного учета *B. perfringens* можно рекомендовать посев различных разведений почвенной болтушки в среду Wilson—Blair (см. главу о воде) нормальной концентрации. Учет выросших черных колоний следует производить через 4 часа выращивания при 46° (Миллер).

Можно рекомендовать следующий примерный план исследования:

### Первый день

1. Осмотр и описание пробы (песчаная, глинистая, сухая, влажная и т. д.).

2. Приготовление взвеси в стерильном физиологическом растворе—5 г на 10 см<sup>3</sup> раствора. Дать слегка отстояться.

3. Приготовить два мазка: 1-й окрасить по Грам, 2-й—запасной. Исследовать каплю взвеси в висячей капле и в темнополевым освещении.

4. Заразить свинку подкожной инъекцией 2 см<sup>3</sup> и в мышцы бедра—0,5 см<sup>3</sup> взвеси.

5. Взвесь, полученную от взбалтывания 30 г земли с 60 см<sup>3</sup> воды, посеять в колбочку со 100 см<sup>3</sup> сахарного бульона с кусочками печени. Поверхность залить парафином (осадок не засеивать).

6. То же после посева, прогреть в течение 10 минут при 80° (колбочку поместить в холодную воду и потом нагревать).

7. Посеять взвесь (п. 2) в два ряда пробирок по 10 штук в каждом с высоким слоем сахарного агара.

8. То же после прогревания взвеси (80° в течение 10 минут) в ряд из 8 пробирок.

9. Посеять петлю взвеси на 6 чашек кровяного агара (чередовать с сахарным) по Fortner.

10. То же после прогревания.

### Четвертый день

11. Исследование посевов по Fortner. Количественный учет разного типа колоний. Мазки и высев чистых культур в сахарный бульон с печенью и косой агар (аэробный контроль).

12. Исследование посевов пп. 5 и 6. Мазки окрасить по Граму. Посев из каждого в два ряда пробирок с высоким агаром по 10 штук в каждом ряду и на 4 чашки кровяного агара по Fortner (петлю стряхивать) и на косой агар (аэробный контроль).

### Восьмой день

13. Исследование посевов пп. 7 и 8 в высокий агар. Количественный учет разных типов колоний. Мазки и высев чистых культур в сахарный бульон с печенью и косой агар (аэробно).

14. Исследование посевов п. 12 по Fortner, аналогично п. 11.

## Д в е н а д ц а т ы й   д е н ь

15. Исследование посевов п. 12 в высокий агар, аналогично п. 13.

16. Проверка мазками и аэробным контролем выделенных чистых культур. Отбор культур для дальнейшего изучения в пестром ряду и опытом на животном.

17. За зараженной свинкой следить ежедневно. В случае заболевания сделать мазки и высевы.

18. Изучение чистых культур.

Морфология, споры, подвижность (в бескислородных условиях), бульон обыкновенный, бульон с печенью (Indol-токсин), молоко, молоко по Covacs или Hirnbrei-Hibler, желатина с кусочком печени, свернутая сыворотка (кусочек свернутой сыворотки в бульоне под парафином).

### А э р о б н ы й   к о н т р о л ь:   к о с о й   а г а р

Среды с углеводами: глюкоза, лактоза, маннит, глицерин, крахмал с кусочками печени под парафином, высокий агар—2 пробирки, кровяной агар по Fortner—2 чашки, заражение свинок культурой.

Перед посевом среды прогревать 20 минут в водяной бане и охлаждать.

Вместо способа Fortner можно пользоваться помещением чашек в бескислородные условия в обычных приборах.

### Обнаружение микробов группы *typhus-paratyphus*

Для накопления соответствующих микробов 100 г почвы засевают в банку с 300—400 см<sup>3</sup> желчи, тщательно взбалтывают и ставят в термостат на 24 часа. В качестве элективной среды можно применить еще среду следующего состава: воды—1 л, нутрозы—10,0, кофеина—5,0, 1% кристаллиолета—10 см<sup>3</sup>.

Посев выдерживают в термостате 18 часов.

Из накопительной культуры делают высевы на чашки с цветными средами.

Дальнейшее исследование—такое же, как и при исследовании посевов мяса (см. главу VII).

Следует быть готовым к получению атипических форм *B. typhi* и *paratyphi* (неагглютинирующихся и отличных по биохимическим признакам).

Потому все подозрительные культуры надо подвергать дальнейшей обработке и изучению на предмет восстановления ими утраченных свойств.

### Обнаружение *V. cholerae asiaticae*

Обычный посев в большое количество пептонной воды (100 г почвы на 1 л среды; далее см. «Исследование воды»).

### Обнаружение *Proteus vulgaris*

Обнаружение *Proteus vulgaris* производится по методу Шукевича (см. гл. IX). Можно засеивать различные разведения, что позволит

ориентироваться относительно количества *Proteus vulgaris* в почве (титрование).

### Обнаружение остальных микробов

Исследование почвенной болтушки обычными для искомого вида способами. Например для *Staphylococcus* и *Streptococcus*—посевы на кровяном агаре и т. д.

## ГЛАВА ПЯТАЯ

### ВОДА

#### БАКТЕРИЙНАЯ ФЛОРА ВОДЫ

Количество видов микроорганизмов, найденных и могущих быть найденными в воде различного рода источников, чрезвычайно велико. Это само собой понятно, так как вода при своем движении через разные слои грунта захватывает целый ряд микроорганизмов, находящихся в земле; кроме того вода содержит до известной степени специфичные для нее виды микробов, а также может загрязняться извне благодаря сплыву в водоемы различного рода нечистот.

Jordan, тщательно изучавший водную флору, выделил 543 культуры, которые им были разбиты по морфологическим и биохимическим свойствам на 17 групп.

После него мало занимались изучением водной флоры более детально несмотря на то, что прошло около 25 лет.

Такое отсутствие интереса к изучению бактериальной флоры воды вполне понятно. При санитарной оценке воды нас интересуют только виды, которые являются небезопасными для человека; огромное же количество сапрофитных видов, находимых в воде, с санитарной точки зрения нас не интересует. Если бы даже определенный бактериальный пейзаж в воде давал нам некоторые данные для санитарной оценки воды, то во всяком случае полное исследование флоры настолько сложно и дорого, что не может применяться при обычных текущих исследованиях. Полное исследование может иметь место лишь при обследовании водоисточников в связи с проектированием крупных водопроводных сооружений. Поэтому вполне понятно, что внимание исследователей было обращено, с одной стороны, на присутствие различного рода патогенных микроорганизмов—*V. cholerae asiatic.*, *B. typhi* и пр., с другой стороны—на определение общего количества микробов.

Количество бактерий, содержащихся в 1 см<sup>3</sup> воды, зависит от целого ряда факторов. Бактерии могут увеличиваться в числе: 1) от поступающих в водоем загрязнений, 2) от размножения при благоприятных для этого условиях (медленное течение, большое содержание органических веществ, подходящая температура). Но они могут и уменьшаться в числе: 1) благодаря процессам осаждения, 2) пожирания их protozoa, 3) убивания их солнечными лучами и пр.

Таким образом из двух водоемов, подвергающихся например одинаковому загрязнению, один при исследовании обнаружит большее

число бактерий, чем другой, в котором имеется ряд неблагоприятных для жизни бактерий условий (сильная соляность при малой глубине, обильное количество protozoa, малое количество органических веществ и пр.). Это показывает, что общее количество бактерий в воде не может служить абсолютным показателем загрязнения воды патогенными микробами, а лишь показателем благоприятных или неблагоприятных условий для жизни микробов вообще и патогенных в частности. Ввиду трудности выделения из воды большинства патогенных микроорганизмов, о чем будет еще речь впереди, а также необходимости не только констатирования уже имеющейся зараженности воды, но и предупреждения таковой, внимание исследователей было обращено на поиски показателей фекального загрязнения воды и разработку методов их выделения.

Поиски велись в направлении отыскания показателей именно фекального загрязнения воды, потому что главным источником загрязнения водоемов патогенными микроорганизмами являются faeces человека и животных.

Какие же главнейшие микроорганизмы могут быть находимы в воде?

Микроорганизмы эти следующие (главным образом по Горовиц-Власовой и Худякову).

Приведенные перечни не являются исчерпывающими, но дают некоторое представление о богатстве видов водной флоры.

Свойства главнейших из перечисленных микробов см. В и с л о у х. Биологический анализ воды; З л а т о г о р о в, Учение о микроорганизмах, ч. II, стр. 264, 1916.

## А. Патогенные

*V. cholerae asiaticae*

*B. typhi abdominis*

Микробы группы *B. paratyphi*

» » *B. dysenteriae*

*B. tuberculosis*

*B. Friedländeri*

*B. tetani*

*B. oedematis malignae*

Микробы группы *B. pseudodysenteriae*

*B. anthracis* (в иле)

*Gonococcus Neisseri* (в воде плавательных бассейнов)

*Sp. icterogenes* (возбудитель болезни Weil)

В. Показатели фекального загрязнения воды (некоторые могут быть при определенных условиях патогенными):

*B. coli comm.*

*B. paracoli*

*B. lactis aerogenes*

*B. faecalis alkaligenes*

*B. chromaerogenicus*

*B. sporogenes*<sup>1</sup>

*B. Welchii*<sup>1</sup>

*B. cloacae*

*B. pyocyaneus*

*Proteus vulgaris*<sup>1</sup>

*B. butyricus*

*Streptococcus faecalis*

Разные стрептококки

и др.

С. Сапрофиты, не могущие считаться показателями фекального загрязнения воды (некоторые по крайней мере с достаточной степенью достоверности):

<sup>1</sup> Может быть сам по себе патогенен.

# Сем. Trichobacteriaceae

Grenothrix  
Clonothrix  
Leptothrix  
Gallionella  
Spirophyllum  
Beggiatia  
Chromatium  
Zoogloearamigera  
Sp. tenue  
Sp. serpens  
Sp. rugula  
Sp. undula  
Sp. volutans  
Spir. plicatilis  
Str. margaritaceus  
B. aquatilis communis  
B. liquefaciens  
B. aquatilis solidus  
B. aquatilis sulcatus  
B. viscusus ochraceus  
B. prodigiosus  
Sarcina lutea  
Micrococcus aquatilis  
Micrococcus rosettaceus  
B. phosphoreum  
V. phosphorescens  
Thiophysa volutans  
Thiospirillum Winogradski  
Leptothrix ochracea  
Grenothrix polyspora  
V. Meschnikowi  
V. Deneke  
V. Ghinda  
V. Danubicus  
V. aquatilis  
V. berolinensis  
Staphylococcus  
Micrococcus candicans  
Micrococcus roseus  
B. violaccens

Sarcina paludosa  
B. punctatum  
M. rhenanus  
Sarcina liquidis  
Светящиеся бактерии  
Torula rosea  
B. aquatilis radiatus  
B. jantinus  
B. subflavus  
B. fluorescens liquefaciens  
B. nonliquefaciens  
B. oogenes hydrosulfureus  
B. subtilis  
B. mesentericus  
B. implexus  
B. ramosus liquefaciens  
B. mycoides  
Sp. rubrum  
Sederbacillus Houston  
Phytomonas aerogenes  
Анаэроб Raab  
B. albus liquefaciens  
M. carneus  
B. constrictus  
B. lactis acidii  
M. rubofaciens  
B. carnosus  
B. nubilis  
M. luteus  
P. bruneus  
B. fulvus  
M. flavus liquefaciens  
B. filiformis  
B. chrozogloia  
B. galbanatus  
M. candidus  
B. lactis viscosus  
B. acidii lactici  
B. helvolus  
B. arborescens  
B. gasoformans и мн. др.

Сохраняемость наиболее важных для нас видов патогенных бактерий, а именно *V. cholerae asiaticae* и микробов группы *coli-typhus* в воде и особенно в иле, может быть очень продолжительной и достигать срока в несколько месяцев, как то установлено экспериментами и наблюдениями в естественных условиях.

Такие длительные сроки сохранения делают воду опасным передатчиком кишечных инфекций.

Из других патогенных микробов следует упомянуть о *Sp. icterogenes*, которая даже способна размножаться в воде. Кроме обычных питьевых вод могут представлять интерес в санитарном отношении морская вода и минеральные воды.

Морская вода вообще довольно бедна микроорганизмами, а на большой глубине даже стерильна.

Сохраняемость патогенных микробов в морской воде разная—в зависимости от того, стерильная ли это или сырая вода. В первой холерные вибрионы сохраняются до 81 дня (Nicati, de Giacha), а в сырой —4—14 дней (Klein, de Giacha). *B. typhi* в сырой морской воде

сохраняется 9—21 день (de Giacha, Klein). Эти данные показывают на возможность заражения через морскую воду, например при купанье.

Натуральные минеральные воды обычно бедны микробами. И если в них находят иногда большое количество микробов, в том числе даже *B. coli* (Kufferath), то это следует рассматривать как результат розлива в загрязненные бутылки и неподходящих санитарных условий что дает основание для принятия соответствующих мер.

Klöwe и Lang из 30 проб нашли только 3 совершенно стерильных, остальные содержали микробов. В одной пробе количество бактерий на 1 см<sup>3</sup> достигало 55 000.

Duhot и Hitin (Compte Rendue Soc. Biolog., CXII, № 2, 1933), исследуя воды Contrexeville, Legere, Wittel, Nepar и мн. др., установили следующее.

1. Вода через 2—4 дня после розлива: 55% проб содержали в 1 см<sup>3</sup> 10—100 бактерий, 35%—100—1 000 бактерий, 10%—свыше 1 000 бактерий.

В содержании бактерий наблюдались сильные колебания, несомненно говорящие о случайных загрязнениях, в основном происходящих из недостаточного отмытых бутылок.

2. Вода после некоторого выдерживания содержала уже значительно меньшее количество бактерий, а именно: 38% были стерильны, 34% содержали в 1 см<sup>3</sup> 10—100 бактерий, 19%—100—1 000 бактерий, 9%—свыше 1 000 бактерий.

В наших водах минераловодской группы в 1 см<sup>3</sup> содержится до нескольких десятков бактерий, а для горячих железноводских источников эти цифры снижаются, доходя до единичных колоний, вырастающих при посеве 1 см<sup>3</sup>.

Искусственные минеральные воды содержат подчас большое количество микробов, например до 10 000 микробов в 1 см<sup>3</sup> (Sohnke, Pfuhl, Hochstetter), причем причиной здесь уже кроме загрязненных бутылок может явиться и загрязненная вода, служащая для изготовления.

Наличие углекислоты сильно сокращает срок жизни бактерий в газированных водах. Холерный вибрион сохраняется до 24 часов (Hochstetter, Dräer), а тифозная палочка—до 5 дней (Hochstetter).

Данные эти указывают на возможность передачи инфекции через свежие минеральные воды и заставляют в случае эпидемии рекомендовать до выпуска выдерживать их до 2 недель.

Из бактериальных пороков безалкогольных напитков, содержащих сахар (ситро и пр.), следует отметить имеющее иногда массовый характер ослизнение и выпадение хлопьев. Обычно эти изменения производятся микроорганизмом типа *Leuconostoc*, образующим мощную слизистую капсулу.

Кроме того находят *B. mesentericus vulgaris* (Красносельский и Вигор).

Бактериальная природа порока определяется микроскопированием и заражением стерильного напитка с получением таких же изменений. Одним из условий, благоприятствующих развитию этого порока, является уменьшение в напитке концентрации молочной кислоты.



## ЗАДАЧИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ

При бактериологическом исследовании воды мы, не задаваясь целью определить качественно и количественно все находящиеся в ней виды, ставим себе обычно следующие задачи:

1. Определение наличия патогенных микроорганизмов.
2. Определение показателей возможности загрязнения воды патогенными микробами. Последнее мы производим путем количественного определения общего числа микробов, находящихся в воде, и количественного и качественного определения некоторых микробов—показателей загрязнения воды faeces человека и животных. Обычно таким показателем берется *B. coli commune*.

3. Определение степени очистки воды в различных водоочистительных сооружениях, о которой мы также судим по степени уменьшения общего количества микробов в 1 см<sup>3</sup> воды и исчезновения или уменьшения содержания в воде определенных микробов (обычно также *B. coli*), по свойствам близко стоящих к патогенным микробам, встречающимся в воде (*B. typhi* и др.).

Прежде чем перейти к методам, осуществляющим выполнение поставленных нами задач, мы займемся методикой выемки проб воды и исследования.

## МЕТОДИКА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

### Взятие проб воды

При взятии проб воды мы должны принять все меры к предупреждению возможных случайных загрязнений, брать порцию, представляющую собой средний образец воды, и организовать транспортировку так, чтобы первоначальная бактериальная флора не изменилась бы к моменту посева ни в качественном ни в количественном отношении.

### В з я т и е   и з   к р а н а   в о д о п р о в о д а   и л и   и з   к о л о д ц а с   н а с о с о м

Сперва с целью уничтожения всех бактерий, случайно находящихся у отверстия крана, мы обжигаем кран паяльной горелкой или небольшим спиртовым факелом (намотать на конец проволоки вату, пропитать ее спиртом и зажечь). Затем открываем кран и в течение 10 минут спускаем воду для того, чтобы в качестве пробы мы взяли воду, не застоявшуюся в ближайшем слепом отрезке водопроводной трубы, а поступающую непосредственно из магистральной трубы. В качестве посуды можно взять любую чистую склянку с притертой или ватной пробкой, простерилизованную сухим жаром. Горлышко склянки вместе с пробкой должно быть покрыто бумажным колпачком, завязанным бечевкой. Непосредственно перед взятием развязывают горлышко и вынимают пробку, держа ее пальцами через бумажный колпачок. При этом нельзя допускать загрязнения горлышка нестерильными предметами. Открытую склянку подставляют под струю водопровода и по наполнении ее водой (не наливать слишком полно) закрывают пробкой, которую во время взятия воды держат все время в руках, захватив ее через бумагу.

## Взятие воды из открытых водоемов и колодцев

После санитарно-топографического обследования выбирают места для забора проб воды.

Дать заранее исчерпывающие указания в этом отношении нельзя, каждый случай необходимо индивидуализировать. Если нам надо лишь взять пробу воды, характеризующую воду, поступающую к потребителю посредством центрального водопровода или же простого забора ведрами, мы можем взять одну пробу в месте забора воды.

Но при изучении источников загрязнения и изучении водоема вообще в санитарном отношении надо брать пробы воды выше и ниже по течению по отношению к каждому пункту, являющемуся возможным источником загрязнения.

Если нет каких-либо специальных заданий и показаний, проба берется на глубине 15—25 см (но не ближе чем 15 см от дна). При исследовании воды, поступающей в водозаборные трубы водопровода,—брать на уровне последних. При наличии течения—брать пробу на месте его наибольшей скорости.

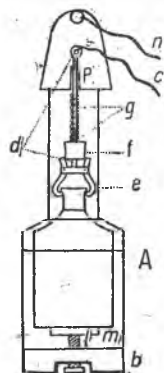


Рис. 9. Схема прибора для взятия проб воды.

### Приборы для взятия воды

Можно рекомендовать прибор Ленинградской городской лаборатории (рис. 9 и 10). Прибор этот состоит из медного станка для бутылки *A* с массив-

ным свинцовым дном *b*. Прибор дает возможность открывания бутылки на любой глубине при помощи потягивания бечевки *c*, привязанной к верхнему концу стержня *d*. Нижний конец стержня имеет лапки *e* для обхватывания пробки бутылки, закрепляющиеся специальным винтом *f*. По отпускании бечевки имеющаяся в приборе пружинка *g* закрывает бутылку.

Через дно проходит винт, поднимающий площадку *m*, позволяющую крепко фиксировать в станке бутылки разной величины. Прибор опускается при помощи бечевки *n*. Трубка *p* предупреждает возможность отклонения стержня в сторону и гарантирует попадание пробки при закрывании в горлышко склянки. Прибор этот позволяет брать воду на любой глубине в количестве, достаточном для обычного бактериологического исследования.

При взятии проб воды существенным условием правильности результатов является отсутствие возможности загрязнения пробы от самого прибора, ибо в нем стерильна лишь склянка. Идеальным является употребление для каждой пробы индивидуально стерилизованных приборов, завернутых в бумагу, но конечно это в огромном большинстве случаев невозможно и технически (транспортирование большого числа приборов) и экономически.

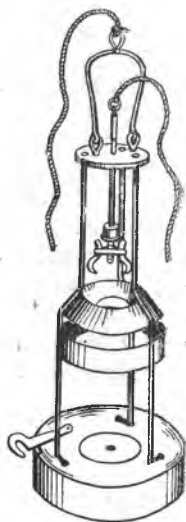


Рис. 10. Прибор для взятия проб воды. Русская модель (по Хлопину).

Практически достаточно употреблять стерильные склянки, причем после вставления их в прибор, который не должен быть мокрым от взятия предыдущей пробы воды, прибор и склянка фламбируются на пламени паяльной горелки, особенно часть его вблизи горлышка склянки. Бумажный колпачок, закрывавший пробку и горлышко склянки, сохраняют и по взятии пробы: им закрывают пробку и объявляют его бечевкой.

Взятие проб из колодцев имеет ту особенность, что оно обычным прибором, в особенности из глубоких колодцев, чрезвычайно затруднительно, так как бечевка, поддерживающая бутыл, и бечевка, открывающая пробку, перекручиваются, и открывать склянку на надлежащей глубине становится невозможным. В этих случаях можно устроить следующее приспособление для автоматического открывания бутылки на любой глубине. К обыкновенному прибору вместо бечевки с, открывающей пробку, прикрепляют бечевку, к концу которой привязывается раздутая камера от футбольного мяча. Длина бечевки должна быть такой, чтобы расстояние от горлышка бутылки до шара плюс  $\frac{2}{3}$  диаметра последнего были равны желаемой глубине взятия. В случае необходимости брать воду на разных глубинах бечевка эта снабжается кольцами, а место прикрепления ее к прибору — крючком. Прикрепляя то или иное кольцо к крючку, можно придать любую длину бечевке. При опускании снаряженного таким образом прибора мы держим его лишь на одной бечевке *n*; когда прибор погружится в воду, шар всплывает на поверхность воды. При дальнейшем погружении бечевка натягивается, ибо шар держится на поверхности, а прибор тянет бечевку вниз, и пробка открывается. При поднимании прибора пробка действием пружины закрывается. Таким же методом можно пользоваться и при заборе воды из надземных водоемов.

Можно в подходящих случаях сконструировать следующее приспособление, заменяющее индивидуальные стерилизованные приборы. В склянку надлежащей емкости наливают дистиллированной воды (слой в 0,2—0,5 см), затыкают ее резиновой плотно сидящей пробкой с проходящей через нее стеклянной трубкой. На последнюю надевают достаточно упругую резиновую трубку длиной в 40—50 см, оканчивающуюся стеклянной трубкой длиной в 40 см. Склянка стерилизуется в автоклаве, и сейчас же после вынимания из него резиновая трубка зажимается крепким зажимом (винтовым, пинцетом Реап и т. д.). Так как воздух из склянки вытеснен паром, то по остывании в ней образуется разреженное пространство (принцип прибора Перетца для фильтрации через свечи без насоса). Стеклянная трубка перед стерилизацией завертывается бумагой.

Для взятия пробы воды снимается бумага со стеклянной трубки, и последняя погружается на 25 см в воду источника, затем открывают зажим, и вода с силой устремляется в склянку. После взятия пробы резиновую трубку вновь зажимают (стеклянную можно снять совсем), и проба отправляется в лабораторию. При правильной монтажке такие приборы держат вакуум много дней.

Небольшое количество стерильной дистиллированной воды в склянке конечно не может дать сколько-нибудь существенного изменения в результатах.

Для колодцев такое приспособление конечно не годится.

## Количество необходимой для исследования воды

Для обычных исследований достаточно 150—200 см<sup>3</sup> воды. Для сильно загрязненных вод достаточно 10—50 см<sup>3</sup>. При исследовании воды после очистки артезианских колодцев или же вообще воды, при исследовании которой 200 см<sup>3</sup> нехватает для определения colitитра, берут и до 1 л.

## Транспортировка

В случае если с момента взятия пробы до посева проходит не более получаса, мы лишь предохраняем пробу воды от излишнего перегревания солнцем. Если же пункт взятия отстоит от лаборатории так далеко, что на доставку потребуется большее время, то пробы воды доставляют при температуре 1—5° в специальных холодильниках или просто в ведре со льдом. В таком случае 3-часовая перевозка не отражается на результатах исследования. 6-часовая перевозка в любых условиях уже делает беспечным посев для счета колоний. Coli-титр можно определять и позже, но с обязательной отметкой о сроке, прошедшем между взятием пробы воды и моментом посева, и об условиях хранения.

## Определение общего числа микробов в воде

Определение общего числа микробов в воде производится путем посева точно отмеренного количества исследуемой воды в расплавленную твердую питательную среду, которая после засева выливается в чашку Петри.

По застывании посев ставится в термостат при 22 или 37° на тот или иной срок, после чего производится счет колоний; результаты выражают числом колоний на 1 см<sup>3</sup> воды.

В качестве питательной среды употребляется мясопептонная желатина. Пробирки с последней ставятся в теплую воду или термостат при 37° и по разжижении засеваются. Желатина имеет следующие преимущества: она легко расплавляется уже при температуре 37°, не вредящей микробам, и долго остается жидкой, что позволяет без особенной спешки или особых приспособлений производить посев.

Далее при росте колоний различных микробов на желатине их можно дифференцировать на разжижающие и не разжижающие желатину виды. Но, с другой стороны, эти же свойства желатины дают целый ряд неудобств. Желатиновые посевы можно выращивать лишь при 22°, а иногда представляется надобность постановки посевов при 37°. Летом при жаркой температуре желатина настолько медленно застывает, что бактерии успевают размножиться, и результаты получаются неверными, — поэтому приходится охлаждать желатиновые посевы на льду: в широкую большую чашку кладут лед и на крышку ее ставят чашку Петри с желатиновыми посевами. Далее разжижение желатины некоторыми бактериями, учет которых не дает никаких данных, ценных для санитарной оценки воды,

иногда ведет к тому, что уже на 2-й день желатина местами сильно разжижается, а на 3—5-й день, когда и следует производить счет, желатина уже успевает превратиться в жидкую массу и счет колоний становится невозможным. Останавливать же начавшееся разжижение, как это рекомендуется, касанием соответствующих колоний кристаллом азотнокислого серебра кропотливо, а при массовых анализах вряд ли применимо.

Кроме желатины в качестве твердой питательной среды можно употреблять мясо-пептонный агар; эта среда находит сейчас большое применение в США.

Посев в агар кропотливее посева в желатину, так как точка застывания агара близка к температуре, которая может оказаться вредной для бактерий, в особенности для некоторых видов их. Агар после растапливания в водяной бане охлаждается в последней до температуры 44° и затем поддерживается в этой температуре во все время производства работы. Температура контролируется термометром, вставленным в водяную баню. Но зато агар ни от действия бактерий ни от термостатной температуры не разжижается, и потому выращивание на нем может продолжаться любой срок и при любой температуре. Застывает он быстро, поэтому особенно удобен при походных посевах. Из всего вышесказанного ясно, что агар дает большие преимущества и поэтому должен быть употребляем и не только для выращивания посевов при 37°, как это рекомендуется в США и у нас в стандартной методике, а для выращивания при 22°. При этой температуре цифры числа колоний получаются близкими к таковым, получаемым при выращивании на желатине при 22°.

**Температура и срок выращивания.** Обычно посевы ставят в термостат при 22°. Стандартная методика рекомендует выращивать 48 часов; это требование вызвано отчасти тем, что дальнейшее выращивание ведет к разжижению желатины.

При замене желатины агаром имеет большой смысл приурочить счет колоний к моменту окончания исследования на бродильный или *coli*-титр, т. е. на 3-й или 5-й день. Затем в целях учета бактерий, растущих при 37°, т. е. по преимуществу паразитов, имеющих большое значение для санитарной оценки воды, желательно хотя бы параллельное выращивание на агаре при 37° в течение 24 часов, как это делается в США.

В случае отсутствия термостата на 22° можно выращивать при комнатной температуре с обязательной одоворкой в протоколе.

При исследовании хлорированной воды выращивание следует производить в течение 2 недель, так как микробы могут быть не убиты, а лишь угнетены, и дадут рост не сразу.

Количество засеваемой воды зависит от степени предполагаемого загрязнения воды. При неизвестном загрязнении рекомендуется засевать 1 и 0,01 см<sup>3</sup> (в случае технической невозможности делать два посева сеют 1,0 или 0,1 см<sup>3</sup> на одну чашку). В целях большей точности следует каждое количество воды засеять не менее, чем на две чашки Петри.

Образцы воды после той или иной очистки можно засевать в количестве 1 см<sup>3</sup>.

Питательные среды, употребляемые для посевов воды, должны иметь по возможности постоянный и стандартный состав и постоянный рН. Поэтому рекомендуется варить среды не на мясной воде, а на мясном экстракте; последний только предварительно должен быть испытан рядом посевов на приготовленных из него средах. Хорошие результаты в смысле достижения максимума числа колоний, могущих произрастать, получаются на среде желатина-агар-альбумоза (рецепты питательных сред приводятся ниже).

Состав и рН питательных сред имеют то значение, что уже сравнительно небольшие отклонения могут повлиять на число вырастающих колоний, и сравнение результатов исследования воды в разных лабораториях и в разное время становится затруднительным (Крассовская).

Перейдем теперь к технике самого посева. Доставленная в лабораторию проба воды взбалтывается, и горлышко склянки открывается, фламбируется огнем паяльной лампы.

Пипеткой в  $1\text{ см}^3$  с делениями на  $0,01\text{ см}^3$ , стерилизованной, завернутой в бумагу и перед самым употреблением после разворачивания фламбированной на пламени, набирают и выпускают 2—3 раза исследуемую воду, затем набирают воду и вносят в пробирку с  $10\text{ см}^3$  расплавленной среды (агар должен иметь не более  $44^\circ$ , а желатина не более  $37^\circ$ ). Для посева  $0,01\text{ см}^3$  в другую пробирку вносят  $0,1\text{ см}^3$  воды, предварительно разведенной в 10 раз (на  $9\text{ см}^3$  стерилизованной воды или физиологического раствора— $1\text{ см}^3$  исследуемой воды).

Среда затем хорошо перемешивается вращением пробирок между ладонями, выливается в стерильные чашки Петри и еще раз перемешивается вращением чашек с наклоном их во все стороны. Среда должна застыть ровным слоем без пузырьков воздуха и без пустых мест. Желатину летом—охлаждать на льду. Край пробирки с питательной средой должны фламбироваться.

По застывании питательной среды посевы ставятся в термостат при  $22$  или  $37^\circ$ .

При производстве разведений края сосудов должны фламбироваться, пипетка вводится до дна в сосуд, из которого берется вода, и опускается не глубже чем на  $3\text{ мм}$  при ее выливании.

Для каждого разведения—пользоваться отдельной пипеткой; в крайнем случае можно начать с больших разведений и переходить к меньшим.

Счет выросших колоний. По прошествии намеченного срока выращивания чашки вынимаются из термостата и выросшие колонии сосчитываются (если по каким-либо обстоятельствам счет не может быть произведен в назначенный день, можно фиксировать рост помещением внутрь на крышку чашки кусочка ваты, смоченной формалином).

Счет производится под лупой (на ножках) с помощью счетчика Вольфгюгеля, главной составной частью которого является квадратное стекло с вытравленной на нем квадратной сеткой. Поверхность каждого квадрата равна  $1\text{ см}^2$ .

Помещают чашку дном кверху и накрывают счетной пластинкой, располагая ее сеткой вниз, для того чтобы деления сетки и колонии

лежали в наиболее близких плоскостях,—иначе они будут лежать в различных фокусных плоскостях по отношению к лупе и счет их будет затруднителен. В случае если чашка недостаточной высоты, чтобы соприкасаться со счетной пластинкой, чашку кладут не непосредственно на дно прибора, а подкладывают крышку чашки. Счетчик с исследуемой чашкой сильно освещают сбоку и приступают к сосчитыванию.

Если число колоний невелико—100—200, их сосчитывают целиком. Если же больше, то обычно сосчитывают число колоний, выросших в 10 квадратах, расположенных в разных местах чашки. При подсчете к данному квадрату присчитываются лишь колонии, расположенные на верхней и правой линиях, ограничивающих этот квадрат. Число сосчитанных в каждом квадрате колоний записывается, и среднее арифметическое умножается на число квадратных сантиметров площади чашки. Окончательный результат высчитывается как среднее арифметическое из всех посевов данной пробы с пересчетом на 1 см<sup>3</sup> воды.

Например посеяно 0,01 см<sup>3</sup> воды на чашку диаметром в 10 см. Счет колоний дал следующие результаты: 3—5—2—1—4—6—2—4—3; среднее арифметическое на один квадрат= $\frac{30}{10}=3$ . Площадь чашки содержит  $\pi r^2$  см<sup>2</sup>=3,14 × 5<sup>2</sup>=78,5 см<sup>2</sup>. На всей чашке следовательно выросло 3 × 78,5=235,5 колоний. Но так как засеяно 0,01 см<sup>3</sup> воды, то в 1 см<sup>3</sup> будет 235,5 × 100=23 550 колоний.

Если были посеяны другие или те же самые количества воды на другие чашки, их сосчитывают таким же образом и в качестве окончательного результата берут среднее.

Например, если при посеве 1 см<sup>3</sup> воды выросло на одной чашке 18 600 колоний, на другой—16 000, а при посеве 0,01 см<sup>3</sup> выросло на одной чашке 23 550 колоний, а на другой—19 220, то окончательно на 1 см<sup>3</sup> надо считать

$$\frac{18\ 600 + 16\ 000 + 23\ 550 + 19\ 220}{4} = 19\ 343 \text{ колонии.}$$

В случае если чашки зарастают *Proteus vulgaris* или другими видами, дающими расплывчатый рост, рекомендуется после посева чашки подсушить в термостате, держа их открытыми 1—2 часа.

Если рост неожиданно получился настолько обильным, что сосчитывание больших квадратов невозможно, подсчитывают колонии в небольших квадратах ( $\frac{1}{9}$  большого), тоже 10 в разных частях чашки, результаты пересчитывают на всю площадь чашки и т. д.

В случае необходимости сравнивать результаты различных исследований, выращившихся по тем или иным причинам в разное время, полезно пользоваться таблицей Calmett.

Таблица эта приводит коэффициенты, на которые должны быть умножены числа выросших в тот или другой день колоний, чтобы получить приблизительное число колоний, долженствующих вырасти в этом посеве на 15-й день.

Этой таблицей можно также пользоваться для сравнения результатов двух исследований, счет колоний при которых был произведен в разные сроки. Конечно такое определение не может быть точным и имеет лишь ориентировочный характер.

День роста	Коэффициент	День роста	Коэффициент
2-й	19,6	9-й	1,5
3-й	8,8	10-й	1,3
4-й	5,6	11-й	1,2
5-й	3,9	12-й	1,1
6-й	3,0	13-й	1,06
7-й	2,4	14-й	1,01
8-й	1,8	15-й	1,00

Примеры. 1. На 5-й день выросло 120 колоний, следовательно на 15-й день должно вырасти  $120 \times 3,9 = 468$  колоний.

2. При необходимости сравнения результатов двух исследований поступают следующим образом.

Если например 1-е исследование дало 432 колонии в 1 см<sup>3</sup> через 48 часов, а 2-е—826 колоний в 1 см<sup>3</sup> на 5-й день, то, чтобы сравнить результаты, их следует привести при помощи таблицы к одному и тому же дню.

Если бы посев первого исследования был выдержан тоже до 5-го дня, то должно было вырасти  $432 \times \frac{8,8}{3,9} = 974$  колоний. Следовательно сравнению подлежат не 432 и 826 колоний, а 974 и 826 колоний.

Во Франции посев для определения числа бактерий в 1 см<sup>3</sup> производится следующим образом.

1 см<sup>3</sup> исследуемой воды смешивается с 10 см<sup>3</sup> бульона (смесь потом служит для определения *V. coli*, см. ниже); 0,01 см<sup>3</sup>, 0,05 см<sup>3</sup>, 3 капли и 5 капель данной смеси засеваются в желатину (употребляется пипетка, дающая 20—30 капель на 1 см<sup>3</sup>). Результаты определяются на 4—15-й день. Пользуются таблицей, уже приведенной нами. Преимущественно счет производится на 8—15-й день, причем обращают внимание на наличие разжижения желатины, образование пузырьков газа в желатине, консистенцию, форму, строение, прозрачность, окраску колоний.

Методика эта не отличается точностью, а кропотливое определение свойств колоний представляется бесполезным для санитарной оценки воды.

Кроме обычного посева предложены способы непосредственного определения числа бактерий в воде. Аппан считает бактерии в счетной камере при освещении темного поля. Müller считает бактерии в осадке воды, полученном из 100 см<sup>3</sup> воды после добавления *liq. ferri oxychlorati* (15 капель) и формалина (5 см<sup>3</sup>) и окрашенном генцианвиолетом.

Но эти способы учитывают также и нежизнеспособных микробов, а первый кроме того дает затруднения при дифференцировке с аморфными частицами и при подсчете сильно подвижных микроорганизмов. Поэтому эти способы в практику не вошли. Ряд авторов, исходя из разной окрашиваемости красками мертвых и живых бактерий, пытается выработать метод окраски, позволяющий непосредственный подсчет только живых клеток (Kayser, Seiffert, Proca, Импенецкий и др.). Kayser модифицировал способ Прока следующим образом: мазки окрашиваются лöffлеровской синькой 3—5 минут и быстро докрашиваются разведенным карболовым фуксином Пфейффера 5—10 секунд. Живые бактериальные клетки окрашиваются в синий цвет, а мертвые—в красный. Gay и Clark проверили и подтвердили метод. Каюкова пробовала применить аналогичный метод для определения числа бактерий в продуктах и дает положительную оценку.



Но Дроботьюко указывает, что разница в окраске зависит не от мертвого или живого состояния клеток, а от проницаемости оболочки и допускает возможность существования живых клеток, окрашивающихся в «мертвый» цвет в силу проницаемости их оболочки. Заманчивость возможности прямого счета живых бактерий требует дальнейших работ в этом направлении, так как несмотря на существующие возражения возможность практического применения не опровергнута.

Дроботьюко рекомендует такой способ окраски.

Мазок после подсыхания без фиксации красят 2 минуты в краске состава: 3% водный конгорот 100,0, насыщенный раствор сулемы 3,0; промывают в водопроводной воде, слегка подкисленной соляной кислотой, и докрашивают 1—2 минуты раствором: ректифицированного спирта—100,0; соляной кислоты—3,0; кислого фуксина—до насыщения; быстро промывают 3% раствором соляной кислоты в ректифицированном спирте. Живые до фиксации бактериальные клетки—красные, мертвые—черно-серые. Frost (цит. по Park) для определения количества микробов предложил следующий способ, дающий весьма быстрые результаты, но несколько более кропотливый, чем обычный подсчет колоний. Принцип его метода заключается в следующем: 0,9 см<sup>3</sup> агара смешиваются с 0,1 см<sup>3</sup> исследуемой воды (цельной или разведенной, смотря по обстоятельствам), 0,1 см<sup>3</sup> смеси выливается на предметное стекло и распределяется возможно равномерным слоем на определенном размере поверхности, например 2 см<sup>2</sup>. Затем стекла помещаются в большую чашку Петри с куском мокрой ваты для предохранения против высыхания и в термостат на 4 часа. Через 4 часа агар на стеклах высушивается. Полученный препарат окрашивается и исследуется под микроскопом.

За 4 часа успевают развиться зародышевые колонии, иногда невидимые в лупу, но обнаруживаемые при исследовании микроскопом. Эти колонии сосчитываются на нескольких полях зрения (для каждой комбинации окуляра и объектива имеется определенная площадь поля зрения), и путем соответствующих пересчетов определяется число колоний на всей поверхности, т. е. 0,1 см<sup>3</sup> смеси агара и исследуемой воды; умножая полученное число (в случае посева 0,1 см<sup>3</sup> неразведенной воды) на 100, получают число колоний на 1 см<sup>3</sup> (см. также метод Forst для молока).

### Количественное определение анаэробов

Уже сравнительно давно Klein и Houston обратили внимание на присутствие в загрязненной воде некоторых анаэробов, главным образом из числа постоянных обитателей кишечника животных. Но практическое применение их определения как показателей загрязнения воды ввиду отсутствия подходящей методики до сего времени совершенно не разработано. В настоящее время можно с успехом пользоваться для количественного определения анаэробов посевом воды в среду Wilson-Blair. Среда готовится следующим образом. К 100 см<sup>3</sup> стерильного расплавленного и слегка остуженного (80°) 3% щелочного мясо-пептонного агара с 1% глюкозы добавляют отдельно 10 см<sup>3</sup> 20% Natrium sulfurosum и 1 см<sup>3</sup> 8% Ferrum chloratum

$\text{Fe}_2\text{Cl}_6$ . Оба последние раствора готовятся на стерильной воде. Это будет концентрированная среда для посевов больших количеств воды, для посевов малых количеств—1 см<sup>3</sup> и менее,—а также для засева других материалов, употребляют среду нормальной концентрации; последняя получается разбавлением вдвое водой.

При росте соответствующих анаэробов *Natrium sulfurosum* восстанавливается в сульфид натрия, который, соединяясь с хлорным железом, образует черный осадок сернистого железа, отчего колонии анаэробов принимают интенсивно черный цвет.

Свойствами восстанавливать *Natrium sulfurosum* в этой среде обладают следующие анаэробы: *B. perfringens*, *B. fallax*, *V. septique*, *B. chauvoci*, *B. sporogenes* и видимо некоторые другие.

*B. tetani* и *B. histoliticus* образуют зеленовато-черные колонии.

Для определения наличия анаэробов среда смешивается с исследуемой водой и посевы выращиваются 24 часа при 37°.

Многу применяется следующая видоизмененная сравнительно с оригинальным способом методика.

10 см<sup>3</sup> подогретой до 40° исследуемой воды смешивается в пробирке с 10 см<sup>3</sup> растопленной и охлажденной до 50° среды. Таких посевов с каждой порции воды производится по два. Кроме того засевают таким же образом 1 см<sup>3</sup> исследуемой воды в предварительно разбавленную вдвое стерильной водой среду Wilson-Blair. Посевы быстро остуживаются и ставятся при 46° на 24 часа (кишечные анаэробы хорошо развиваются при этой температуре). Через 24 часа производят подсчет выросших черных колоний и пересчитывают на 10 см<sup>3</sup>.

Например посев 1 см<sup>3</sup> дал 2 черные колонии, посев № 1—10 см<sup>3</sup> дал 18 черных колоний, посев № 2—10 см<sup>3</sup> дал 6 черных колоний. Следовательно в среднем в 10 см<sup>3</sup> будет содержаться

$$\frac{2 \times 10 + 18 + 6}{3} = \frac{44}{3} = 15 \text{ колоний.}$$

Хотя черные колонии образуют многие анаэробы и некоторые аэробы (*B. typhi*, *B. paratyphi* В и др.), но при посеве воды и выращивании при 46° практически черные колонии можно считать за колонии *B. perfringens*. В случае сильно загрязненной воды сеют меньшие количества (0,1—0,001).

Вода, содержащая более двух колоний в 1 см<sup>3</sup>, должна считаться подозрительной (Weinberg).

По наблюдениям Yuna *B. perfringens* образует черные колонии уже через 4 часа. Поэтому учет черных колоний через этот промежуток времени дает возможность в большинстве случаев определить число особей *B. perfringens*.

В заключение следует указать, что *B. perfringens* не только является показателем фекального загрязнения воды, но может сам по себе вызвать заболевания (эпидемия 1918—1921 гг., Montclair, New-Jersey, Norton).

### Обнаружение стрептококков

Prescott и Winslow надеялись, что при помощи нахождения стрептококков можно отличать загрязнения человеческого и животного происхождения, но при проверке это оказалось практически невоз-

можным. Mallmann считает стрептококков показателями загрязнения воды плавательных бассейнов.

Технически стрептококки обнаруживаются посевом осадка определенного объема исследуемой воды на поверхность кровяного агара.

### Определение титра *V. coli*

Для определения титра кишечной палочки в настоящее время существует много способов; в общем они сводятся к посеву различных количеств воды (например 0,1—1—10—100 см<sup>3</sup> и т. д.) в жидкие питательные среды. Если в данном количестве воды есть кишечная палочка, то она размножается, и по прошествии 24 часов высеив из данного посева на чашку с твердой питательной средой, например Эндо, дает некоторое количество колоний *V. coli*; чтобы окончательно убедиться в наличии *V. coli* в данной порции воды, выделяют чистую культуру из подозрительных колоний, точно определяют ее морфологические и биохимические свойства и на основании полного изучения культуры ставят окончательный диагноз. Наименьшее количество воды, содержащее *V. coli*, считается *coli*-титром.

Для большего практического удобства жидкие среды, в которые засеивается вода, конструируются таким образом, что они являются неблагоприятными для роста посторонних микробов, могущих заглушить рост *V. coli* (французский способ), либо так, что при росте кишечной палочки в среде происходят легко регистрируемые изменения (газо- и кислотообразование, образование индола); это позволяет не производить высева на твердую питательную среду из посевов всех количеств воды, а лишь тех, в которых наблюдаются изменения, свойственные *V. coli*. Наличие таких изменений не дает еще права заключить о присутствии *V. coli*, так как и многие другие микроорганизмы, встречающиеся в воде, могут производить такие же изменения; равным образом отсутствие изменений не говорит с абсолютной достоверностью об отсутствии в этом посеве *V. coli*, так как встречаются расы, очень медленно развивающиеся и не дающие даже через 48 часов изменений. Поэтому высеив на твердую питательную среду, выделение чистых культур и их идентификации являются всегда необходимыми для точного диагноза.

Наличие образования газа или индола при посеве того или иного количества воды дает возможность судить лишь о бродильном или индоловом титре. Наименьшее количество воды, давшее при посеве соответствующие изменения, принимается за бродильный или индоловый титр.

Твердые питательные среды также могут быть построены так, чтобы они задерживали рост других микробов (принятая во Франции среда Elsner), или так, чтобы колонии *V. coli* легко были отличимы от других (среда Эндо, на которой колонии *V. coli* вырастают красными благодаря выделяющейся при разложении лактозы кислоте под влиянием редукции фуксина, обесцвеченного *Natrium sulfurosum*).

Необходимость точной идентификации *V. coli* в настоящее время признается не всеми; в США к вопросу о показателях загрязнения воды подходят несколько иным образом, о чем подробно будет

сказано при разборе американского стандартного метода бактериологического исследования воды.

### О п р е д е л е н и е б р о д и л ь н о г о и c o l i - т и т р а п о с п о с о б у E i k m a n n - B u l i r

Этот способ применяется в СССР и Германии и является наиболее проверенным и точным. Суть его заключается в посеве различных количеств воды в среды Eikmann или Bulir. Первая имеет в своем составе глюкозу, вторая—маннит и нейтральрот.

Типичная *V. coli* сбраживает с образованием газа глюкозу и маннит, и поэтому в случае присутствия в данном количестве воды хотя бы одной палочки *V. coli* (теоретически) она обнаруживает себя появлением брожения. Колбы, не давшие брожения, обычно можно считать свободными от типичной *V. coli*, и дальнейшему исследованию они не подлежат.

В среде Bulir типичная *V. coli* может вызвать изменение красной окраски среды от нейтральрота в желтую. Но этот признак не может считаться обязательным для признания данной культуры типичной *V. coli*, ибо не все штаммы *V. coli* им обладают. Если все признаки кроме данного подходят, мы все-таки должны признать культуру за типичную *V. coli*. Кроме того этот признак является даже для одного и того же штамма непостоянным: иногда культура, дававшая изменение цвета, при последующих посевах его уже не дает. Все это делает применение нейтральрота в среде Bulir условным и необязательным. Я лично работаю со средой, приготовленной по рецепту Bulir, но без краски.

Центр тяжести разбираемого метода заключается в температуре, при которой производится выращивание.

Roden и Wensan указали на то, что типичная *V. coli* растет при температуре 45—46°, в то время как огромное большинство водных микроорганизмов при этой температуре не растет.

Особенно важным оказалось то, что *V. coli* из кишечника холоднокровных животных также не растет при этой температуре. Указанный факт имеет огромное значение, так как, с одной стороны, у нас нет других способов дифференцировать *V. coli* холоднокровных от *V. coli* теплокровных, с другой стороны—только эти последние могут служить показателями опасного загрязнения воды.

Метод Eikmann—Bulir представляет собой комбинацию двух принципов, указанных во введении к этой главе: 1) высокая температура, при которой производится выращивание, и 2) демонстративное изменение среды, почему и следует признать этот метод точным и практичным.

Практически исследование воды на *V. coli* по Eikmann—Bulir производится следующим образом.

Во-первых, для удобства среда заготавливается в двух концентрациях.

1. Неразведенная, как указано в рецепте, эта среда содержит тройное против нормального для обычных питательных сред количество углевода, соли и пр.

Если мы ее засеем культурой микроба или малым количеством воды, то в такой концентрированной среде микробы будут расти очень

плохо или вовсе не дадут роста. Эта среда употребляется лишь для засева больших количеств воды ( $10\text{ см}^3$  и больше); тогда мы при посеве как бы разбавляем неразведенный Bulir в три раза исследуемой водой и в итоге получаем нормальной концентрации питательную среду, в которой засеяно нужное количество исследуемой воды. Среда разливается в колбы и пробирки с таким расчетом, чтобы количество ее равнялось половине каждого из намеченных для посева количеств воды. Например для посева  $100\text{ см}^3$  воды мы наливаем в колбы по  $50\text{ см}^3$  неразведенного Bulir.

2. Разведенная среда готовится разведением основного Bulir еще до стерилизации в три раза водой. Эта среда нормальной концентрации и употребляется для засева малых количеств воды— $1\text{ см}^3$  и меньше. Итак, по получении пробы воды мы ее встряхиваем, делаем посев для количественного определения колоний (как указано выше) и приступаем к посевам для определения coli-титра.

Какие количества воды засевать? Это зависит от степени известного или предполагаемого загрязнения источника. В случае неопределенной степени загрязнения и вообще при обычных ориентировочных исследованиях рекомендуется сеять следующие количества воды:  $0,1$ — $1$ — $10$ — $100\text{ см}^3$ . В случае сильно загрязненной воды нужно сеять меньшие количества например  $0,001$ — $0,01$ — $0,1$ — $1$ — $10\text{ см}^3$ , причем для посева количеств, меньших чем  $0,1\text{ см}^3$ , мы пользуемся разведением  $1:100$ , приготовленным для посева на определение числа колоний, и берем этого разведения  $1\text{ см}^3$ , содержащий  $0,01\text{ см}^3$  неразведенной воды, и  $0,1\text{ см}^3$ , содержащий  $0,001\text{ см}^3$  неразведенной воды. В случае исследования очень чистых вод, полученных: а) из различного рода очистительных станций, б) из артезианских колодцев или в) не давших при прежних исследованиях брожения при посеве  $100\text{ см}^3$ , сеют воду в количестве до литра, причем из соображений технического характера и для точности определения результатов сеют не сразу весь литр в одну колбу, а следующим образом: 2 колбы по  $100\text{ см}^3$  и 4 колбы по  $200\text{ см}^3$  или 10 колбочек по  $100\text{ см}^3$ ; таким образом общее количество засеянной воды будет равно 1 л.

Если источник исследуется не первый раз и мы знаем, что coli-титр его колеблется в узких пределах и имеется надобность его точного определения, мы поступаем так: засеваем несколько равных объемов воды, меньших чем минимальный coli-титр, наблюдавшийся в этом источнике; общее же количество засеянной воды должно быть больше максимального coli-титра данного источника. Способы вычисления coli-титра при двух последних схемах посева будут указаны ниже.

Самый посев при обычной схеме производится следующим образом.

В пробирки с разведенным Bulir примерно по  $5\text{ см}^3$  вливаем пипеткой с делениями на  $0,01$  в первую— $0,1$ , а во вторую— $1\text{ см}^3$  исследуемой воды.

Затем в пробирку с  $5\text{ см}^3$  неразведенного Bulir вливаем  $10\text{ см}^3$  исследуемой воды и наконец в колбу вместимостью приблизительно в  $200\text{ см}^3$ , содержащую  $50\text{ см}^3$  неразведенного Bulir, вливаем  $100\text{ см}^3$  исследуемой воды. При посеве горлышки пробирок, колб и склянок с водой должны фламбироваться на огне.

Пипетки также должны быть фламбированы, и для каждого разведения отдельные. Точного отмеривания при помощи пипеток  $10\text{ см}^3$

и 100 см<sup>3</sup> воды можно не производить, а наливать до нужного уровня, который контролируется сравнением с колбой и пробиркой одинаковых размеров с теми, в которые производится посев, содержащими первая 150 см<sup>3</sup>, вторая—15 см<sup>3</sup> воды.

После посева и отметки на колбах и пробирках номера анализа и количества засеянной воды посевы ставятся в термостат при 46° на 24—48 часов; при обязательной проверке выделенных культур на способность давать газообразование при 46° можно посевы воды выдерживать при 37°, что дает в некоторых случаях известные преимущества. После этого посевы осматриваются и отмечается газо-



Рис. 11.

образование. Наименьшее количество воды, давшее при посеве газообразование в среде Bulir, принимается за бродильный титр, каковой может быть сообщен в качестве предварительного результата в спешных случаях.

В случае присутствия в воде большого количества азотнокислых солей газообразование может задержаться.

Гусс рекомендует в таких случаях добавлять на 100 см<sup>3</sup> воды 1 г  $K_2HPO_4$ .

Изменение цвета при отсутствии газообразования и, наоборот, отсутствие изменения цвета при газообразовании не умаляют значения пробы газообразования, на которую мы ориентируемся. Ибо по данным Горовиц-Власовой кроме *V. coli* найдено в воде 40 видов бактерий, изменяющих цвет Bulir, а по моим наблюдениям до 50% штаммов типичной *V. coli* не изменяют цвета Bulir.

Для определения *coli*-титра делают высевы на среду Эндо из посевов, содержащих наименьшее и следующее за ним количества воды, давших газообразование. Посев рекомендуют производить на слегка подсушенные чашки (в термостате, открытыми, дном вверх,  $\frac{1}{2}$ —1 час, рис. 11) таким образом: набрать из забродившей жидкости петлю, стряхнуть ее так, чтобы в просвете ее жидкости не оставалось, и сплошь затушевать ею на чашке (все время перевортывая петлю в разные стороны) 5 площадок по  $1-1\frac{1}{2}$  см<sup>2</sup> и затем сеять частыми штрихами. Следы посевных штрихов будут выглядеть, как представлено на рис. 12.

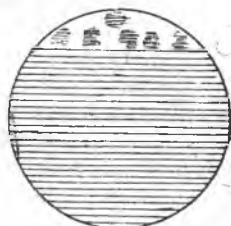


Рис. 12.

При этом способе посева, как показывает мой опыт, всегда можно получить достаточное количество хорошо изолированных колоний. Чашки с посевами на Эндо ставятся в термостат при 37° и выдерживаются 24 часа, после чего исследуются. Если имеются типичные для *V. coli* колонии,—а таковыми мы считаем яркокрасные колонии с зеленоватым металлическим блеском при рассматривании с поверхности и покраснением зоны питательной среды вокруг колонии,—то мы делаем высев из косога агара для получения чистых культур. Не следует ограничиваться высевом одной колонии, а высевать 2—3. Высев нескольких колоний является обязательным в случае не совсем типичных для *V. coli* колоний. Если типичных колоний не имеется, то делают высев из наиболее подозрительных.

Ввиду существования и других кроме *V. coli* бактерий, дающих газообразование в среде Булir, как например *Proteus vulgaris*, *V. cloacae*, *V. viscosus ochraceus* и др., наблюдаются случаи, когда при наличии брожения мы не находим ни типичных ни даже подозрительных на *V. coli* колоний. Иногда посев остается вовсе стерильным. Горовиц-Власова объясняет это явление феноменом Neumann (отмирание *V. coli* после начавшегося брожения) и присутствием газообразующих анаэробов (*B. saccharobutiricus*, *B. foetidum*, *B. perfringens*, *B. aerosporus*, *Lederbacillus Houston*, *Phytomonas aerogenes* и др.), которые могут в глубине среды или в бродильной трубке вследствие образования на поверхности аэробной пленки находить себе достаточно анаэробные условия для существования.

Некоторые видят возможность появления брожения от синергизма некоторых бактерий в чистых культурах, порознь не дающих такового (Castellani, Ward Nenekt, Зильбер). Norton же считает роль синергизма проблематичной.

На следующий день культуры после проверки их чистоты и морфологии засеваются в пестрый ряд.

В случае необходимости ускорить получение результатов исследования можно поступить следующим образом (метод Института Коха).

Из намеченных колоний возможно бóльшим количеством материала засеваются пробирки с 1—2 см<sup>3</sup> обыкновенного бульона и ставятся в термостат при 37° на 1½—2 часа, после чего из этих посевов производится заражение пестрого ряда.

Какими признаками по «пестрому ряду» должен обладать выделенный микроб, чтобы мы могли его признать типичной *V. coli*?

Типичной *V. coli* признается микроб: 1) морфологически представляющий собой небольшую грамотрицательную палочку; 2) хотя бы слабо подвижный; 3) растущий в аэробных условиях; 4) не разжижающий желатины в течение 48 часов при 37° (определяется отсутствием способности застывать при охлаждении пробирки с культурой на желатине, выращенной в термостате при 37°, в струе холодной воды); 5) свертывающий молоко в 48 часов при 37° (если свертывания не наступает, то подогревают и определяют, получается ли свертывание при подогревании); 6) образующий индол через 72 часа; 7) вызывающий брожение с образованием газа и кислоты в средах с лактозой, глюкозой, маннитом при 37° через 24 часа; 8) не образующий ни газа ни кислоты с сахарозой.

Это—требования, предъявляемые стандартной методикой.

С моей точки зрения все эти признаки не должно считать обязательными. Так например исследование Минкевича показало, что некоторые штаммы *V. coli* из faeces разлагают сахарозу т. е. является *V. coli comm.*,—поэтому признак отсутствия брожения с сахарозой нельзя считать верным. На практике наличие всех признаков типичной *V. coli* не должно являться обязательным для признания выделенного микроба за показателя фекального загрязнения.

Образование индола, будучи обязательным для типичной *V. coli*, может быть необязательным для показателя фекального загрязнения, если мы примем *V. paracoli* Gilbert также за таковых. Это вполне возможно, ибо *V. paracoli*, так же как и *V. coli*, постоянно встре-

чается в faeces. Затем известны штаммы *V. coli*, свертывающие молоко через 4—6 дней; такой продолжительный срок на практике сильно удлиняет исследование, и поэтому можно ограничиться определением способности разлагать лактозу в средах Барзикова (или каких-либо других углеводных).

Известным коррективом при включении в обязательные признаки свертывания молока является проба на свертывание при кипячении.

Признак подвижности также не является необходимым, так как известно, что имеются неподвижные *V. paracoli*, да и не всегда можно считать неподвижным микроб, который при исследовании не выявил движения.

Таким образом выделенный микроб для признания его за показателя фекального загрязнения группы *V. coli* должен обладать следующими признаками: 1) морфологически грамтрицательная небольшая палочка; 2) расти в аэробных условиях; 3) не разжижать желатины; 4) вызывать брожение с образованием газа и кислоты в средах с лактозой, глюкозой и маннитом при 37° через 24 часа; 5) образовывать индол (?), 6) свертывать молоко (?).

Кроме того обязательным признаком для признания данного микроба показателем фекального загрязнения теплокровных должна являться способность его сбраживать маннит при 46°. Это свойство обязательно надо проверять на чистой культуре, а не руководствоваться наличием брожения при 46° в посеве воды, так как оно может быть вызвано и другими микробами.

Для определения этих свойств мы поступаем следующим образом: по выделении чистой культуры мы проверяем, действительно ли она является грамтрицательной палочкой, а также ее чистоту. Затем засеваем ее в пестрый ряд, состоящий из:

1) пробирки бульона, 2) пробирки желатины, 3) пробирки молока, 4) пробирки со средой Барзикова или какой-либо другой (с бродильной трубочкой) с глюкозой, 5) то же с лактозой, 6) то же с маннитом, 7) пробирки косога агара (если чистая культура не была выделена предварительно на косом агаре).

Посев в пестром ряду помещается при 37°, а посев в маннит при 46°—на 3 дня, после чего регистрируются все изменения и производится реакция на индол. Последнюю лучше всего производить по способу Berthelot следующим образом: к бульонной культуре прибавляется равное количество эфира, смесь взбалтывается несколько раз в течение 3—5 минут (взбалтывать, хорошо закрывая пробирку корковой пробкой), затем дают эфиру отстояться и в случае плохого отстаивания прибавляют несколько капель спирта; эфирную вытяжку сливают в отдельную пробирку, добавляют  $\frac{1}{4}$  объема 4% *paradimethylamidobenzaldehyd* на спирт, взбалтывают тонкой пипеткой (пастеровской), на дно пробирки наливают около 0,5 см<sup>3</sup> крепкой соляной кислоты (добавлять кислоту следует осторожно, так чтобы жидкости переслоились). Появление красного кольца указывает на присутствие индола, фиолетовый его оттенок показывает присутствие и скатола. Если в течение 5 минут красное кольцо не появилось, проба считается отрицательной.

Молоко, если оно не свернулось, кипятят и определяют свертываемость.



Пробирки с желатиной ставят в холодную воду и по застывании контролей определяют разжижение.

Таким образом на основании всех признаков мы диагностируем и устанавливаем присутствие *B. coli* в посеве того или другого количества воды. Почти без ущерба для практической точности исследования можно сократить число признаков, обязательных для признания выделенного микроба за показателя фекального загрязнения группы *B. coli*, и производить идентификацию следующим образом.

Типичные колонии на Эндо высеваются на косой агар (в дальнейшем—мазки), в среду Bulir при 46° и желатину. Культуры, состоящие из грамотрицательных палочек, бродящие при 46° и не разжижающие желатину, признаются показателями фекального загрязнения (в случае нетипичности колоний дополнительно еще определяется способность их ображивать лактозу).

Вычисление *coli*-титра производится следующим образом.

*Coli*-титром, как уже было сказано, считается наименьшее количество воды, в которой обнаружена *B. coli*, обладающая вышеописанными свойствами.

Например 0,1 см<sup>3</sup> воды не дала брожения, 1, 10 и 100 см<sup>3</sup> дали брожение. Сделан высев на Эндо из посевов 1 и 10 см<sup>3</sup> воды. *B. coli* обнаружена лишь в посеве 10 см<sup>3</sup> воды. Вывод: бродильный титр—1 см<sup>3</sup>, *coli*-титр—10 см<sup>3</sup>.

Если бы *B. coli* обнаружена была и в посеве 1 и 10 см<sup>3</sup>, то бродильный и *coli*-титр совпадали бы и равнялись 1 см<sup>3</sup>.

В случае если ни в одном посеве на среду Эндо, сделанном из забродивших посевов на среду Bulir, *B. coli* не обнаружена, за *coli*-титр принимается следующее большее количество воды.

Например, если в нашем примере мы не обнаружили *B. coli* ни в посеве 1 см<sup>3</sup> ни в 10 см<sup>3</sup>, то *coli*-титр равен 100 см<sup>3</sup>. Если *B. coli* (или брожение) будет обнаружена в меньшем объеме воды, а в большем не будет, то за *coli*-титр (или бродильный) принимается больший объем. Например *B. coli* обнаружена в 1 см<sup>3</sup>, а в 10 см<sup>3</sup> не обнаружена: *coli*-титр равен 10 см<sup>3</sup>. Такое заключение мы можем сделать, ибо если например в 11 см<sup>3</sup> воды имеется одна палочка, то при разливке на 10 и 1 см<sup>3</sup> эта одна палочка редко, но может попасть не в объем 10 см<sup>3</sup>, а в объем 1 см<sup>3</sup>. По сути дела титр 10 см<sup>3</sup> будет ближе к истине. Если же мы имеем результаты 10—, 1—, 0,1+или 10—, 1+, 0,1+, то их следует признать неточными и зависящими от технических изменений или крайне неравномерного распределения *B. coli* в воде. В таких случаях исследование надо повторить с новой порцией воды этого источника. Для большей точности рекомендуется засеять по три порции каждого объема воды и выводить средний результат.

Если производились посевы нескольких равных объемов воды, то *coli*-титр (или бродильный) определяется так.

Весь засеянный объем воды делят на число посевов, в которых обнаружена *B. coli* (или давших брожение); полученный результат и будет *coli*-титром (или бродильным).

Например посеяно 10 колб по 100 см<sup>3</sup>. *B. coli* не обнаружена ни в одной колбе—*coli*-титр >1 000,0. *B. coli* обнаружена:

Количество колов	Coli-титр	Количество колов	Coli-титр
1	1 000,0	6	160,0
2	500,0	7	140,0
3	330,0	8	130,0
4	250,0	9	110,0
5	200,0	10	100,0

В некоторых случаях посевы, давшие брожение без последующего посева на Эндо и идентификации, принимаются за содержащие *B. coli*. Это делается в отношении посевов, следующих за меньшим объемом воды, давшим брожение, но без обнаружения *B. coli*. Кроме того можно принимать бродильный титр равным coli-титру в случаях, когда при многократном регулярном обследовании какого-либо источника бродильный титр всегда оказывался равным coli-титру, а также при исследовании сточных вод.

Novack, учитывая возможность наличия в воде особей *B. coli* тепловых с подавленными (под влиянием длительного пребывания в воде) ферментативными свойствами и не дающих по этой причине брожения при 46°, предлагает пробы на брожение ставить вначале при 37° и если брожение получится, сделать пересев и поставить его при 46°.

### О п р е д е л е н и е  и н д о л о в о г о  т и т р а п о  G e r s b a c h

Способ был предложен в 1922 г. и основан на способности *B. coli* образовывать индол.

Различные количества воды, как и в способе Eikmann-Bulir, засеваются на среду, богатую триптофаном (например Neisser и Fringsheim), и выращиваются при 37°. Через 24 часа стерильно отливают часть посева и проделывают пробу на индол (см. выше), через 48 часов проделывают пробу с остальной частью культуры. Наименьший объем воды, давший индолообразование, принимается за индоловый титр.

Для определения coli-титра делают высевы на среду Эндо и производят идентификацию. Все указания в отношении количеств засеваемой воды, идентификации, определения результатов и пр., приведенные для способа Eikmann-Bulir, относятся в полной мере и к данному способу.

Кизеветтер считает наиболее подходящей для индолообразования среду Фридберга.

Серьезным препятствием введению в практику этого метода является наличие, особенно в жаркое время, в некоторых водоемах большого количества индолообразующих вибрионов (Непомнящая).

### В и д о и з м е н е н и е  S a l u s  и  H i g n и  Г о р о в и ц - В л а с о в о й

К среде с триптофаном добавляют глюкозу и мел и выращивание ведут при 46°. Идея этого видоизменения очень хороша. Оно позволяет в одной и той же среде учитывать сразу два признака, характерных для *B. coli*,—индоло- и газообразование. Но к сожалению, как

показали исследования Минкевича, на практике глюкоза и развивающиеся при ее брожении продукты (несмотря даже на прибавление мела, должественствующего нейтрализовать развивающуюся кислоту) резко задерживают индолообразование. В особенности часто задерживается индолообразование при  $46^{\circ}$ . Все это делает способ малопригодным на практике. Горовиц-Власова, исходя из мысли, что в воде находится меньше сапрофитных микробов, способных сбраживать лактозу, чем сбраживающих глюкозу, предложила заменить глюкозу в способе Salus и Hign лактозой и выращивать при  $35^{\circ}$ . Ее видоизменение дает по Минкевичу лучшие результаты еще потому, что лактоза и продукты ее разложения оказывают менее задерживающее влияние на индолообразование, чем глюкоза, но температура в  $35^{\circ}$  является неподходящей, так как не препятствует развитию *V. coli* холоднокровных. Применение же  $46^{\circ}$  для способа Горовиц-Власовой дает худшие результаты. По Минкевичу прибавление мела во всех способах не улучшает результатов и поэтому бесполезно. По Berthelot и Chaduc во всяком случае надо прибавлять химически чистый мел и стерилизовать его отдельно от среды, так как реакция среды при совместной стерилизации резко меняется, что и сказывается конечно на результатах.

#### Определение фекального загрязнения по способу Petruschki-Pusch

Различные количества воды засевают в бульон и выдерживают 24 часа при  $37^{\circ}$ . Определяют термофильный титр учетом наименьшего объема воды, давшего в этих условиях муть, и *coli*-титр—путем высева из помутневших пробирок *V. coli*. Название «термофильный титр» является не совсем правильным, ибо вообще принято считать термофильными микробы, развивающиеся при  $50-70^{\circ}$ . Вообще этот способ почти никем не применяется и имеет почти исключительно исторический интерес как один из этапов развития способов определения фекального загрязнения воды.

#### Определение фекального загрязнения воды по Gennipson

Засевают  $20\text{ см}^3$  исследуемой воды в бродильную колбочку с  $4\text{ см}^3$  среды Eikmann, ставят при  $37^{\circ}$  и через 6, 15, 24, 48 часов регистрируют газообразование. При сильном фекальном загрязнении газообразование появляется через 6 часов, при незначительном—через 15 часов, при отсутствии загрязнения газообразование появляется лишь через 24 часа, причем газа должно образоваться менее  $5\text{ см}^3$ , а через 48 часов—менее  $9\text{ см}^3$ . Способ этот нуждается еще в проверке и поэтому не может быть рекомендован для введения в практику.

#### Определение числа особей *V. coli* на определен- ный объем воды по геттингенскому способу

$10\text{ см}^3$  исследуемой воды наливают на поверхность среды Эндо в чашке Петри и в особом шкафу с сильным током воздуха при  $30^{\circ}$

испаряют ее в течение 40 минут. Посевы ставят при 46°. Через 24 часа типичные для *V. coli* колонии сосчитывают и часть из них подвергают исследованию для установления их идентичности с типичной *V. coli*, ибо в воде могут быть и другие бактерии, образующие на среде Эндо колонии, не отличимые от колоний *V. coli*.

### Определение числа особей *V. coli* на определенном объеме воды по Wikullil

Интересным по своей идее, но к сожалению малопробованным, является нижеследующий способ Wikullil. Считая, что отношение к лактозе и манниту не является достаточно надежным способом для определения *V. coli*, а жидкие среды вообще мало подходящи, Wikullil предлагает использовать для дифференцировки *V. coli* способность ее переводить нитраты в нитриты.

Готовится среда следующего состава: к 100 см<sup>3</sup> 2% агара (pH=6,4—6,8) добавить: а) 0,1 Metaphenyldiamin sulf. (Merk), растворенного в 3 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и оставленного открытым до окраски в светлорозовый цвет; б) 1,0 лактозы и 1,0 Kalium nitricum, растворенных в нескольких см<sup>3</sup> воды; в) 10 см<sup>3</sup> 1% раствора Metachromgelb II RD (вскипяченного). Зеленовато-желтая среда смешивается с 1 и 10 см<sup>3</sup> воды, и определяется число колоний черно-коричневого цвета. Автор полагает, что практически все черно-коричневые колонии можно считать колониями *V. coli*, так как Metachromgelb задерживает рост грамположительных и спороносных бактерий, а черный цвет колоний (изменение цвета Metaphenyldiamin sulf.) является доказательством перехода нитратов в нитриты. Для точности можно выделить чистые культуры и их идентифицировать.

### Определение числа особей *V. coli* в определенном объеме воды при помощи мембранных фильтров

Барсов предложил учитывать число *V. coli* в воде, фильтруя определенный объем воды через нитроцеллюлозный мембранный фильтр и накладывая фильтр на среду Эндо,—при этом на поверхности фильтра развиваются красные колонии *V. coli*, число которых соответствует числу *V. coli* в данном объеме воды.

Эггер усовершенствовал этот способ в отношении рецептуры приготовления фильтров, а также введением посева вместо среды Эндо на «карбол-эндо». На этой среде значительное число бактерий не растет, и колонии кишечной палочки развиваются без помех.

Преимущества этого метода заключаются в более точном учете числа *V. coli*, быстроте (отпадает время, необходимое на накопление); из отрицательных сторон следует отметить большую техническую сложность.

Метод этот заслуживает внимания, его необходимо достаточно широко испытать для выяснения возможности внедрения его в практику.

Детально методика Барсова и Эггера представляется в следующем виде.

Приготовление мембранных фильтров. Обрезки кино-пленки намачиваются горячей (50—60°) водой, желатиновый слой стирается тряпками или щетками, и затем из них готовится масса для фильтров.

Эггер предлагает такой рецепт: кинопленки 7 частей, ацетона 6½ см³, уксусно-этилового эфира 36 см³, изоамилового спирта 40 см³.

По растворении масса выливается на абсолютно чистое зеркальное стекло (воздух помещения не должен быть пыльным) таким образом, чтобы путем свободного растекания образовались пленки сантиметров 10 диаметром. Перед употреблением фильтры кипятятся в дестилированной воде в течение часа.

Для походных целей Эггер рекомендует кипячение производить заранее и складывать фильтры в стерильную широкогорлую банку с притертой пробкой.

Приготовленные таким образом фильтры глянцевитой (бывшей в соприкосновении со стеклом) стороной вверх закладываются в стерилизованные кипяченые фильтрационные аппараты Seitz вместо обычных асбестовых фильтров. Вместо аппарата Seitz Эггер пользовался прибором Колквица, который описывается им следующим образом: «Аппарат состоит из колбы Бунзена, заткнутой широкой резиновой пробкой. В пробке проделано воронкообразное отверстие со вделанной в верхнее отверстие дырчатой эбонитовой пластинкой. На эту пластинку в пробке укладывается фильтр, который прижимается к пробке стеклянным цилиндром без дна. Цилиндр притягивается к колбе резиновыми тяжами за специальные крючки. Подлежащая исследованию вода наливается в цилиндр и, просасываясь сквозь фильтр через эбонитовую решетку, попадает в колбу».

Для осуществления стерильности в походных условиях рекомендуется пробку держать в склянке с 70° спиртом, а стеклянный цилиндр обжигать на спиртовом пламени.

Для исследования в цилиндр аппарата Seitz или Колквица наливают нужное количество воды (в зависимости от степени чистоты от 1 до 100 см³) и просасывают, создавая в колбе Бунзена отрицательное давление (даже ртутью).

После этого фильтр плотно накладывается на среду карбол-эндо.

Эта среда готовится смешиванием 100 см³ обыкновенной среды Эндо с 1—2 см³ свежеприготовленного 5% раствора карболовой кислоты.

Красные колонии *V. coli* развиваются на поверхности фильтра. После выращивания фильтр можно снять с питательной среды, высушить и сохранять в качестве документа.

Накладывая фильтр на обыкновенный агар, можно этой методикой определить общее число бактерий, но по сравнению с обычной методикой посевов для счета колонии этот способ особых преимуществ не имеет.

Способ определения *V. coli* в воде, применяемый во Франции<sup>1</sup>

Как выше было указано, способ этот основан на задерживающем влиянии карболовой кислоты и выращивания при 42° на рост почти всех водных микроорганизмов кроме *V. coli*.

<sup>1</sup> Laboratoire du Conseil superieur d'Hygiène publique de France.

Аранжировка посева такова: берут 3 больших пробирки емкостью в 40 см<sup>3</sup> каждая с 10 см<sup>3</sup> бульона и одну колбу емкостью в 250 см<sup>3</sup> с 100 см<sup>3</sup> бульона. Засевают 1, 10, 25, 100 см<sup>3</sup> воды; после засева добавляют 5% карболовой кислоты с таким расчетом, чтобы ее в посеве получилось 0,4%, и ставят при 42°.

Одновременно засевают 10 см<sup>3</sup> в бульон без карболовой кислоты при 37° (для нахождения *V. ruosuaueus* и физиологического эксперимента).

Через 48 часов из проросших посевов берется по капле культуры на 10 см<sup>3</sup> пептонной воды. Смесь встряхивается, и небольшая капля ее засевается в 10 см<sup>3</sup> расплавленной желатины Elsner и выливается на чашки Петри. Остальное количество ставится в термостат при 42° на 6 дней, после чего в культуре определяется индол. Посев на среде Elsner осматривается на 8-й день; благодаря задерживающему влиянию нодистого калия, входящего в состав среды Elsner, на ней вырастают почти исключительно колонии микробов группы *V. coli*.

Для точной диагностики производится микроскопическое исследование и посев в сахарную желатину и пептонную воду, на которых определяются сбраживание лактозы и образование индола. Таким же образом находят колонии *V. typhi*, *V. paratyphi* и *V. dysenteriae*, причем подозрительные культуры испытываются специфическими сыворотками.

С культурой, полученной посевом воды в бульон без карболовой кислоты, производится физиологический опыт: свинке интраперитонеально впрыскивается 0,3—0,5 см<sup>3</sup> четырехдневной культуры на 100 г веса животного. У зараженной свинки тщательно измеряется температура до инъекции, затем через  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  часа, затем каждый час в течение 5—6 часов и наконец утром и вечером в продолжение 8 и более дней.

Культуры, полученные из чистой воды, не должны оказывать сколько-нибудь значительного влияния на нормальную температуру свинки.

В случае смерти или заболевания свинки на секции производятся все необходимые посевы для выделения патогенных микробов.

Таким образом французская методика, не ограничиваясь выделением из различных объемов воды *V. coli*, которое только производится способами, совершенно отличными от принятых у нас и в Германии, вводит дополнительную пробу на животном.

Микрометод идентификации. В качестве быстрого и экономного в смысле расходования питательных сред метода для идентификации бактерий кишечнотифозной группы можно рекомендовать микрометод Bronfenbrenner (см. мою статью во «Врачебной газете» 1926 г.).

Этот метод заключается в посеве на капли питательных сред, расположенных в чашке Петри вместо обычных пробирок, и дает, с одной стороны, экономию питательных сред в 50—100 раз, а с другой—позволяет читать результаты через 4—6 часов. Метод особенно выгоден при массовом исследовании культур, [выделенных из воды, и пр.

## Определение фекального загрязнения воды по американскому методу

В Америке *Standart Methods of Water and Seavage Analysis* предписывает следующий способ исследования воды на группу *Coli aerogenes*.

Различные количества воды засеваются в бульон с лактозой. Из пробирок, забродивших при 37° в течение 48 часов, делают высевы на Эндо; типичные колонии на этой среде высеваются в бульон с лактозой; если проба брожения положительна и выделенная культура морфологически соответствует микробам групп *Coli aerogenes*, то количество воды, из которого данная культура выделена, считается содержащим микробов группы *Coli aerogenes*.

Но согласно новейшим, главным образом американским работам не все представители группы *Coli aerogenes* могут быть показателями фекального загрязнения воды. В этой группе есть и фекальные и почвенные микроорганизмы, а последние никак не могут дать повода считать воду опасной в санитарном отношении.

Поэтому американский стандартный комитет рекомендует проводить дифференцировку почвенных и фекальных штаммов этой группы при посредстве ряда специальных проб (см. ниже) и только в том случае, если штамм окажется фекального происхождения, считать воду загрязненной. Новизна этих тестов и их недостаточная пока еще надежность заставили комитет рекомендовать выносить суждения на основании этих тестов с большой осторожностью. Таким образом мы видим, что особенностью американской методики является употребление для предварительной пробы брожения среды с лактозой (вместо обычных глюкозы и маннита) и выращивания при 37°; последнее представляет слабое место методики, так как позволяет развиваться штаммам фекального происхождения от холоднокровных. Большой заслугой американцев следует признать точную регламентацию всего хода исследования с учетом всех возможных результатов, что ведет к действительной унификации исследований, а это важно для получения сравнимых результатов.

Ниже приводится подробное изложение методики в том виде, как ее излагает комитет.

Другой особенностью американской методики является утверждение, что для заключения о загрязненности данной воды необходимо выделить из нее типичную *B. coli*, так как ряд других микробов группы *Coli aerogenes* может также быть показателем загрязнения.

Поэтому американцы не применяют точной идентификации выделенной культуры, а ограничиваются лишь установлением принадлежности ее к группе *Coli aerogenes*, а к таковой относятся неспороносные грамотрицательные короткие палочки, разлагающие лактозу с образованием кислоты и газа и растущие аэробно. Такое рассуждение вполне правильно, и применение этого принципа в практической работе может значительно упростить исследование, отбрасывая кропотливую точную идентификацию.

Но к сожалению, как выше было указано, группа *Coli aerogenes* делится на две подгруппы: *B. coli*—типичную для *faeces* и *B. aerogenes*—типичную для почвы; дифференцировка между ними видимо

возможна, но она не менее сложна, чем идентификация типичной *B. coli*, и кроме того методы этой дифференцировки пока еще нельзя считать достаточно надежными. Поэтому американская методика требует еще дальнейшей проработки, в особенности ввиду выращивания посевов при температуре 37° вместо 46°. До сих пор проба при 46° является наиболее верной и надежной для отличия *B. coli* теплокровных от холоднокровных.

Как показали мои исследования, некоторые штаммы *B. coli*, выделенные из воды и бродящие при 46°, т. е. типичные показатели фекального загрязнения по русскому и немецкому способам, будучи испытаны американскими тестами, оказались по американской классификации почвенного происхождения. И наоборот, штаммы по американской классификации, на основании соответствующих проб отнесенные к фекальным штаммам, в части случаев не дают пробы брожения при 46°. Таким образом мы имеем расхождение между американским и европейским методами.<sup>1</sup> Какому же верить? Мои наблюдения показали, что проба с 46° давала в значительно большем проценте случаев совпадение с другими данными об исследуемой воде (результаты санитарно-топографического, химического и биологического обследований), чем американские тесты. Поэтому я считаю, что введение последних в практику возможно лишь в качестве подсобных для проверки и выяснения на практике их значения. Но как бы то ни было описание всего хода исследования, предписываемого американской стандартной методикой, настолько интересно как образец продуманности и плановости, что я позволю себе привести его полностью.

#### Учет *B. coli* по американскому стандартному методу

В то время как европейские бактериологи в поисках характерного показателя фекального загрязнения воды в своих исследованиях проводят точную дифференцировку *B. coli* commune, американцы пошли по совсем иному пути.

Исследуя воду, они отыскивают представителей обширной группы *B. coli aerogenes*, которая по биохимическим признакам распадается на I подгруппу—*coli*, характерную для faeces, и II подгруппу—*aerogenes*, характерную для почвы.

Определив в воде присутствие микроба, относящегося к группе *Coli aerogenes*, американские исследователи затем при помощи ряда методов дифференцируют подгруппу *coli* от *aerogenes* и тем самым подтверждают или отрицают в данной пробе воды наличие фекального загрязнения.

<sup>1</sup> В сводке Max Lewine находим следующие данные:

Из 2 534 культур бактерий группы *Coli aerogenes*, выделенных из faeces, лишь 5,9% при испытании американскими тестами оказались принадлежащими к подгруппе *aerogenes* (почвенного происхождения).

Из 1 141 культуры этой же группы, выделенных из почвы, к подгруппе *B. coli* принадлежало лишь 13,5% культур (т. е. были фекального происхождения).

Миневич в обстоятельной работе на 283 штаммах из почвы не мог подтвердить данных сводки Lewine, а именно 95% штаммов, выделенных им из почвы, оказалось принадлежащими к подгруппе *B. coli*.



## Общие замечания о составе группы *Coli aerogenes* и о методах ее выделения

Согласно американскому учению группа *Coli aerogenes* включает в себя все граммотрицательные, не образующие спор палочки, растущие аэробно на стандартных твердых средах и образующие с газообразованием лактозу (в конце книги помещена таблица свойств микробов группы *Coli aerogenes*).

Для определения этой группы в воде существуют три пробы: I—предварительная, II—частично подтверждающая и III—окончательная.

*I. Предварительная проба.* 1. По сев. Ряд бродильных трубок бульона с лактозой засеивается убывающими количествами исследуемой воды. В бродильной трубке среда должна занимать по меньшей мере половину объема испытываемой воды.

2. Инкубация и запись результатов. Бродильные трубки ставятся в термостат при 37° на 48 часов. Каждая трубка обследуется через 24 и 48 часов, и в ней отмечаются: а) отсутствие газа, б) образование газа менее 10% ее объема и в) образование 10% газа и более.

Предварительное определение дает положительный ответ, если через 24 часа в перевернутой трубке газ занимает 10% ее объема и более.

Предварительное определение дает сомнительный ответ, если через 24 часа совсем не образуется газа или его образуется меньше 10%. Выращивание в таком случае продолжается до 48 часов: какое бы количество газа ни образовалось—ответ сомнительный, и дальнейшие подтверждающие исследования необходимы.

Предварительное определение дает отрицательный ответ, если по истечении 48 часов газ отсутствует. Срок инкубации в 48 часов несомненно не исключает возможности наличия некоторых членов группы *Coli aerogenes*, медленно образующих газ. Но для стандартных определений это исключение несущественно, ибо встречается редко.

*II. Частично подтверждающая проба.* Выращивание на чашках с агаром Эндо. Из забродившей пробирки (или колбы), содержащей наименьший объем воды и давшей газ, производится высев на чашки с Эндо. Следует это делать как можно скорее после того, как газообразование будет обнаружено, и немедленно, если газ появится лишь через 24 часа.

Пример. Если исследуются объемы в 10,1 и 0,1 см<sup>3</sup> воды и газ образуется в 10 и 1 см<sup>3</sup>, но не образуется в 0,1 см<sup>3</sup>, то высев на Эндо для частично подтверждающей пробы делается только из одной бродильной пробирки, содержащей 1 см<sup>3</sup> воды (если бы через 48 часов в бродильных пробирках с меньшим объемом воды получилось газообразование, то следовало бы сделать высев и из этих трубок).

Через 18—24 часа выращивания в термостате при 37° отмечаются типичные и нетипичные колонии. Если за это время на чашке выросли типичные, т. е. красные с металлическим блеском и с красным ободком вокруг колонии, то это значит, что частично подтверждающая проба положительна. Если же через 24 часа вырастут нетипичные

колонии, то все же нельзя такой результат считать отрицательным, так как встречаются такие разновидности группы *Coli aerogenes*, которые дают типичную картину колоний с большим запозданием или вовсе ее не дают. В таких случаях следует обязательно перейти к окончательной пробе.

**III. Окончательная проба.** Типичные колонии. С чашек Эндо платиновой иглой отвиваются две или более типичные колонии на поверхность косого агара и в бродильную пробирку с лактозой.

Нетипичные колонии. Если через 24 часа на чашке разовьются лишь нетипичные колонии, чашки следует выращивать еще 24 часа, а затем две или более колонии, наиболее похожие на типичные колонии группы *Coli aerogenes*, отвить на косой агар в бродильные пробирки с лактозой.

Появления газа в пробирках с лактозой выжидают не более 48 часов.

С пробирки косого агара, через 24 часа соответствующей той бродильной, которая дала газ, делаются мазки, окрашиваются по Граму и исследуются микроскопически.

Образование газа в бульоне с лактозой и присутствие на косом агаре грамотрицательных и неспорообразующих палочек следует рассматривать как положительный ответ окончательной пробы.

Отсутствие газообразования или отсутствие грамотрицательных и неспорообразующих палочек в забродивших трубках с лактозой должно рассматривать как отрицательный ответ окончательной пробы.

Конкретные случаи применения предварительной, частично подтверждающей и окончательной проб

**I. Предварительная проба.** Если проба дала положительный результат (образование более 10% газа по объему через 24 часа при 37°), то она достаточна: 1) для всех забродивших трубок одного и того же образца воды, за исключением пробирки или колбы с наименьшим объемом воды, давшим газ, и 2) даже для пробирки или колбы с наименьшим объемом воды, давшим газ, в случае исследований сточной жидкости, вод, загрязненных настолько явно, что не возникает и вопроса об употреблении их в качестве питьевых, и наконец при контроле работы полей орошения.

Если проба дала отрицательный результат (отсутствие газа через 24 и через 48 часов), то она достаточна во всех случаях.

Сомнительный ответ (образование менее 10% газа по объему или полное отсутствие его через 24 часа или образование лишь незначительного объема газа через 48 часов) всегда требует подтверждения.

**II. Частично подтверждающая проба.** Положительный ответ (появление типичных колоний на чашках Эндо через 24 часа) достаточно: 1) когда определение применяется для подтверждения сомнительного предварительного определения в тех случаях, когда ответом последнего по существу можно удовлетвориться; 2) при обычных контрольных исследованиях водопроводной воды, когда рядом предыдущих анализов установлено совпадение частично подтверждающего и полного определений.

Отрицательный ответ (отсутствие колоний через 24 часа) и сомнительный ответ (появление нетипичных колоний через 24 часа) требуют дальнейшей проверки окончательной пробой.

*III. Окончательная проба.* Применяется ко всем наименьшим объемам, дающим газ, исключая случаи, когда ответами предварительного и частично подтверждающего определения можно удовлетвориться, а также во всех случаях, когда ответ частично подтверждающего определения сомнителен.

### Разведение и учет результатов

Учет количества бактерий группы *Coli aerogenes* производится по методу титра, т. е. установлением наименьшего объема воды, содержащего один организм группы *Coli aerogenes*.

Если анализ данной воды производится впервые, то рекомендуется заражать бродильные пробирки или колбы с лактозой убывающими в геометрической прогрессии (со знаменателем 0,1) количествами испытуемой воды (например 10, 1, 0,1 см<sup>3</sup>), причем каждым разведением засеивается не менее 3 бродильных пробирок или колб.

Учет результатов производится следующим образом:

Количество воды (в см <sup>3</sup> )			<i>Coli aerogenes</i>
100	10	1	—
+	+	—	10
+	—	+	10
+	—	—	100

Окончательный титр . . 40

т.е. для каждого ряда разведений определяется свой титр, а окончательный титр выводится как среднее арифметическое из этих титров.

Если больший объем исследуемой воды не дает газа, а меньший—дает газ, за титр надо принимать тот объем, который предшествует последнему разведению, давшему газ. Этот прием основывается на том, что при разведении взвесей возможны случаи, когда при небольшом числе бактерий одна бактерия случайно попадает в меньший объем и ни одна—в предшествующий, больший. Например если в 11 см<sup>3</sup> находится лишь одна бактерия, она может попасть в 1 см<sup>3</sup> и не попасть в 10 см<sup>3</sup>. В таком случае правильное *coli*-титром считать титр 10 см<sup>3</sup>, так как этот объем ближе к истине (11 см<sup>3</sup>).

При обычных контрольных анализах, т. е. в тех случаях, когда предыдущими наблюдениями установлены границы, в пределах которых обычно колеблется титр данного источника воды (например 0,1—1 см<sup>3</sup>), для анализа можно взять количество воды, соответствующее наивысшему титру, и разбить это количество на равные порции, соответствующие наименьшему титру (так, в данном случае надо взять 10 объемов по 0,1, в общем составляющих 1 см<sup>3</sup>).

Дифференцировка типичных фекальных членов группы *Coli aerogenes* от нетипичных

Американский стандартный метод исследования воды рекомендует три метода, дающие возможность дифференцировать микробы под-

группы Coli от микробов подгруппы Aerogenes, но не претендующие на точное установление происхождения выделенного микроба.

1. Проба с Methyloth в среде Clark.

2. Проба Voges-Proscauer.

3. Проба со средой, содержащей как источник углерода лимоннокислый натрий (Koser).

Различие между подгруппой Coli и подгруппой Aerogenes представлено на следующей таблице:

Подгруппа	Реакция с Methyloth	Реакция Voges-Proscauer	Лим.-кисл. натрий	Местонахождение в природе
Coli . . . . .	+	—	—	faeces
Aerogenes . . .	—	+	+	почва

1. Реакция с Methyloth. К 5 см<sup>3</sup> культуры, выращенной при 37° в течение 4 дней, прибавляют 5 капель Methyloth (0,4 г Methyloth в 300 см<sup>3</sup> этилового спирта добавить до 500 см<sup>3</sup> воды). Появление красной окраски в среде считается положительной реакцией (+). Появление желтой окраски (свидетельствующей о том, что pH среды выше 5,0) считается отрицательной реакцией (—); появление средней окраски—сомнительной ( $\pm$ ).

2. Реакция Voges-Proscauer. К оставшимся от определения с Methyloth 5 см<sup>3</sup> культуры на среде Clark добавляют 5 см<sup>3</sup> 10% едкого кали и ставят в термостат при 37° на ночь. Появление эозиново-красной окраски среды считается положительной реакцией (+), отсутствие таковой—отрицательной реакцией (—).

3. Рост на среде с лимоннокислым натрием (Koser), обнаруживаемый через 4 дня при температуре 37°, считается положительной реакцией (+), отсутствие роста—отрицательной реакцией (—).

#### Ход анализа по стандартному методу

Наименование процесса	Дальнейшее исследование
А. Заражение бульона с лактозой различными количествами воды. В термостат на 24 часа при 37°:	
1. Газы—больше 10% по объему:	
а) посевы с наименьшими количествами воды	В
б) остальные и все посевы сточной воды	не нуждаются в исследовании (+)
2. Газы—меньше 10% по объему . . . . .	Б
Б. В термостат на 24 часа при 37°:	
1. Газ есть . . . . .	В
2. Газы нет . . . . .	не нуждается в исследовании (—)
В. Высев на Эндо 24 часа при 37°:	
1. Типичные колонии есть . . . . .	Д
2. Типичных колоний нет . . . . .	Г
Г. На 24 часа при 37°. Выделить наиболее подозрительные колонии . . . . .	Д
Д. Перевить 2 колонии:	
1. В бульон с лактозой на 48 часов при 37°	
2. Косой агар на 24 часа при 37°	
а) в лактозе газ есть . . . . .	Е
б) в лактозе газа нет . . . . .	в исследовании не нуждается (—)

Е. Мазок по Граму:

- |  |                                 |
|--|---------------------------------|
| 1. Палочки грамположительные . . . . .       | в исследовании не нуждаются (—) |
| 2. Палочки грамотрицательные . . . . .       | в исследовании не нуждаются (+) |
| 3. Палочки грамполож. и грамотрицат. . . . . | Ж                               |
| 4. Остальные микробы . . . . .               | в исследовании не нуждаются (—) |

Ж. Посев для выделения чистой культуры . . . . . Д и Е

Кроме определенного распорядка хода анализа и выработки тестов для отличия фекальных и почвенных бактерий группы *Coli aerogenes* американский стандартный метод предлагает употреблять для исследования воды среды, приготовленные по определенным и точно выполняемым рецептам.

Zdansky указывает на лизорезистентность большинства особей *B. coli*, выделяемых из воды, к бактериофагу, в то время как *B. coli*, выделяемая из faeces, в большинстве случаев лизосенсибильна.

Otto и Munter высказывают предположение о вероятной возможности использовать эти свойства для отличия *B. coli* фекального и сапрофитического характера.

### Оценка способов определения фекального загрязнения воды

Если мы просмотрим все способы, то наиболее надежным явится способ Eikmann-Bulir.

Определение индолового титра по Gersbach сложнее и ненадежно для отделения *B. coli* холодокровных из-за низкой температуры выращивания, а также из-за возможности наличия в воде индологенных вибрионов. Видоизменения этого способа (Salus и Hirn, Горовиц-Власова) ненадежны, так как даже в присутствии *B. coli* не всегда имеет место индолообразование.

Способ Геннигсона определения фекального загрязнения по объему газа недостаточно проверен и не может считаться надежным, так как усиленное образование газа может быть следствием присутствия небольшого числа очень активных особей, а не вообще большого количества загрязняющих воду микроорганизмов.

Определение числа *B. coli* по геттингенскому способу технически сложно, требует специального шкафа с мотором для высушивания, не годится для больших объемов воды и вряд ли является более точным, чем способ Eikmann-Bulir.

Способ Petruschki-Pusch имеет лишь исторический интерес.

Французская методика по отзывам французов дает удовлетворительные результаты. Сравнительную же оценку с другими способами (Eikmann-Bulir) дать затруднительно из-за отсутствия сравнительных параллельных исследований по тому и другому способам.

Американская методика очень хороша благодаря разработанности всей системы исследования, но имеет тот недостаток, что не дает гарантии отделения *B. coli* теплокровных от холодокровных.

Американские тесты для отличия фекальных и почвенных штаммов, в особенности некоторые из них, например проба на среде Koser, как показали мои исследования, могут явиться хорошим подспорьем при даче окончательного заключения в случае выделения

штаммов, бродящих при 46°, но не обладающих всей суммой свойств типичной *V. coli*, однако самостоятельно они пока еще не могут быть применимы.

При сравнении методов Eikmann и Eikmann-Bulir (отличающихся тем, что при первом употребляется среда с глюкозой без краски и при посеве разводится водой в 7 раз, а при втором среда содержит маннит, нейтральрот и разводится в 3 раза) мы должны отдать предпочтение второму. Основанием для этого является большая частота нахождения в воде микробов, не относящихся к показателям загрязнения воды и сбраживающих глюкозу, чем таких же микробов, сбраживающих маннит. Кроме того разведение в 7 раз несколько затруднительнее технически.

Итак, из всех существующих способов определения фекального загрязнения воды мы отдаем предпочтение способу Eikmann-Bulir, который до сих пор является непревзойденным в своей надежности, но с моей точки зрения его надо усовершенствовать в следующих отношениях: 1) удалить из состава среды краску как необязательную для диагностики; 2) попробовать заменить маннит лактозой, ибо по Горовиц-Власовой в воде имеется лишь 10 видов бактерий, дающих брожение лактозы с газообразованием, и гораздо большее число видов, сбраживающих маннит, предварительно проделав экспериментальные исследования для подтверждения теоретического предположения о преимуществе лактозы для практического исследования воды; 3) при идентификации ряд признаков может быть признан без ущерба для точности исследования обязательным и может быть добавлено испытание на среде Koser.

В настоящее время можно предложить определять следующие свойства выделенных культур: 1) морфология и отношение к окраске по Граму, 2) аэрибоз, 3) отношение к желатине, 4) отношение к углеводам, глюкозе, лактозе и манниту (последний при 46°), 5) образование индола, 6) рост на среде Koser.

Из последних двух свойств по крайней мере одно должно соответствовать типичной фекальной *V. coli*. Иными словами, если нет образования индола, то для признания за палочкой фекального происхождения необходимо отсутствие роста ее на среде Koser.

При таком способе конечно часть штаммов не будет типичными *V. coli*, но они будут во всяком случае относиться к показателям загрязнения воды, так как это будут виды, стоящие очень близко к *V. coli* (главным образом разные виды *V. paracoli*), которые также встречаются в фекасах наряду с типичной *V. coli*. Все они должны удовлетворять признаку брожения при 46°.

## НАХОЖДЕНИЕ В ВОДЕ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Как выше указывалось, нахождение в воде патогенных микроорганизмов представляет большие трудности. Так известно, что несмотря на частые эпидемии брюшного тифа несомненно водного характера и массу попыток обнаружить во время таких эпидемий *V. typhi* в воде это удается очень редко; в мировой литературе по настоящее время описано лишь около 40 случаев, причем часть находок относится к вообще сильно загрязненным водам почти сточного характера.

Причины такой редкости находок разные. Friedberger вообще сомневается в частоте водных эпидемий и следовательно считает случаи присутствия *B. typhi* в питьевой воде очень редкими. Вернее другая точка зрения: в настоящее время можно считать вполне определенным, что *B. typhi* при пребывании в воде в симбиозе с целым рядом водных микроорганизмов может так изменить свою физиономию, что если мы ее и выделим, то не примем за *B. typhi*. В моей практике было два таких случая, когда из колодцев школы и одного дома, в которых наблюдались заболевания брюшным тифом, были выделены палочки, не аглютинировавшиеся тифозной сывороткой и отличающиеся от *B. typhi* еще и отношением к углеводам (маннит); конечно я не мог признать такую палочку *B. typhi*, но через некоторое время после ряда пересевов на обыкновенных и сахарных средах (с тем углеводом, который свежевыделенная культура не разлагала в отличие от *B. typhi*) у них появилась способность аглютинироваться, и по биохимическим своим свойствам они вполне подошли к *B. typhi*. Это показывает, с каким вниманием надо относиться ко всем культурам, выделенным из воды и приближающимся по своим свойствам к *B. typhi*; такие культуры могут оказаться тифозными палочками с измененной физиономией.

В отношении исследования воды на *B. dysenteriae* можно повторить те же рассуждения.

Исключением является исследование воды на присутствие холерного вибриона, для чего употребляется вполне определенная методика, дающая достаточно надежные результаты.

Lortet много раз обнаруживал *B. typhi* в иле озера, поэтому можно рекомендовать кроме посева воды сеять ил.

Пшеничников проверил метод исследования ила водоемов на присутствие *B. typhi* и получил удовлетворительные результаты.

Для посева Пшеничников брал 5 см<sup>3</sup> ила, взятого илососом Перфильева, и засеивал в 100 см<sup>3</sup> желчи для накопления.

### И с с л е д о в а н и е   в о д ы   н а   *B. typhi* и *para typhi*

Рекомендуется перед посевом сконцентрировать все микробы, находящиеся в 3—5 л воды, в возможно малом объеме и произвести посев на элективные среды, например в желчь или прямо на чашки с цветными средами, и исследовать чашки обычным способом.

*Методы концентриций.* Эти методы основаны на принципе осаждения образованием хлопчатых осадков или фильтрования. Из них можно указать на следующие:

1. С п о с о б   Ф и к е р а. К 3 л исследуемой воды добавить 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> cryst.—12 см<sup>3</sup>, 10% Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>—10,5 см<sup>3</sup>; оба раствора должны быть стерилизованы. Размешать и оставить на холоде в покое на один час. По прошествии этого времени должен образоваться осадок. Если, наоборот, часть или все хлопья соберутся на поверхности, следует еще раз перемешать жидкость и оставить ее отстаиваться еще на час.

Прозрачный слой воды осторожно сливают, рыхлый осадок вместе с оставшейся жидкостью разливают по центрифужным пробиркам и центрифугируют на электрической центрифуге 5 минут. Сливают прозрачную жидкость, а осадок растворяют в 25% стерильном

растворе  $C_4H_2O_6K_2$ <sup>1</sup> нейтральной реакции, прибавляя его каплями, одновременно помешивая петлей и встряхивая до растворения осадка. Полученный раствор осадка употребляют для посева на цветные питательные среды; 1,0—0,25 см<sup>3</sup> размазывают по поверхности среды шпатель Дригальского. Если осадок сеют в желчь для накопления, то его можно не центрифугировать и не растворять, а смешать с равным количеством желчи и уже из нее через 24—72 часа делать высевы на цветные среды.

2. С п о с о б M ü l l e r. К 3 л исследуемой воды добавить *Liq. ferri sesquichlorati* 5 см<sup>3</sup>, а при мягкой воде кроме того—12 см<sup>3</sup> 10%  $Na_2CO_3$  (стерильных); размешать и оставить в покое на один час. Если хлопья будут плавать наверху, снова размешать и дать отстояться еще один час. Прозрачную воду слить, и остаток профильтровать через стерильный бумажный фильтр.

С фильтра осадок засеивается прямо на цветные среды или же предварительно в желчь, откуда через 1—2—3 дня делаются высевы на цветные среды (Эндо и пр.).

3. О с а ж д е н и е с п е ц и ф и ч е с к о й с ы в о р о т к о й. С п о с о б В и н д е л ь б а н д т а, измененный Ш е п и л е в с к и м. К литру бульона прибавляют 500 см<sup>3</sup> исследуемой воды, ставят при 37° на 24 часа, фильтруют через вату и добавляют к фильтрату сильной тифозной агглютинирующей сыворотки с таким расчетом, чтобы полученное разведение сыворотки агглютинировало тотчас взвесь тифозных палочек (ставить контроль).

Ставят в термостат, центрифугируют в центрифуге 2 минуты при 1 000 оборотов в минуту. Жидкость сливают. Осадок разбивают бусами в специальной баночке с физиологическим раствором и засеивают на цветные питательные среды. Способ этот, как и другие, основанные на данном принципе, теоретически интересен, но на практике и непроверен и мало применим. Недостатки его следующие: а) выращивание в термостате может повести к гибели *V. typhi* от симбиоза с некоторыми бактериями и б) употребление малых количеств воды ненадежно, так как *V. typhi* находится в воде в очень небольшом количестве, большие же количества требуют много стерильной агглютинирующей сыворотки, которую далеко не везде можно иметь. В нашем примере надо прибавить, чтобы получить разведение 1:500 (обычное разведение, дающее при сильных сыворотках немедленную агглютинацию), 3 см<sup>3</sup> сыворотки.

4. Ф и л ь т р о в а н и е ч е р е з ф и л ь т р ы, з а д е р ж и в а ю щ и е б а к т е р и и. 3—5 л исследуемой воды фильтруются через свечу Беркефельда, Шамберлянда или Seitz-фильтр. По окончании фильтрования смывают осадок обратным током небольшого количества (2—3 см<sup>3</sup>) стерильной воды (Гессе). Эта вода засеивается на чашки с цветными средами.

Kaszynski рекомендует фильтр целиком помещать в желчь. Осадок на асбестовой пластинке Seitz-фильтра можно соскабливать платиновым шпатель.

Лучшим методом с моей точки зрения и по моему опыту является концентрирование бактерий из 5 л воды и последующий высев в желчь

<sup>1</sup> Винно-каменноокислый калий.



всей массы осадка. Посев же прямо на твердой среде обычно не позволяет использовать всей массы осадка, создает на поверхности питательной среды неблагоприятные условия роста и дает густой рост сапрофитов, могущих заглушить рост *B. typhi*.

Из посева в желчь делают высевы на среде Эндо или Дригальского через 24—48—72 часа. Лучше для посева брать и ту и другую среду и засеивать 8—10 чашек.

Чашки ставятся в термостат на 24—48 часов, после чего отыскиваются подозрительные колонии, выделяют чистые культуры, которые затем идентифицируют в пестром ряду и при помощи реакции аглютинации.

В случае отсутствия аглютинации, но при совпадении морфологических и биохимических признаков выделенной культуры с таковыми у *B. typhi* делают ряд пересевов на косом агаре при 37°, после чего вновь пробуют аглютинировать.

### И с с л е д о в а н и е   в о д ы   н а   *B. dysenteriae*

Исследование воды на *B. dysenteriae* производится так же, как и исследование на *B. typhi*, но без предварительного накопления.

### И с с л е д о в а н и е   в о д ы   н а   *B. anthracis*

Полученный одним из методов концентрации (осаждение или фильтрование) осадок делится на три части; одну часть прогревают при 80° в течение 15 минут, другую засеивают в сахарный бульон (1 часть осадка на 5 частей бульона), гретый предварительно в водяной бане 15 минут, заливают вазелином и ставят в термостат при 37°. Через 24 часа прогревают при 80° в течение 15 минут.

Третья часть не подвергается никакой обработке.

В первой порции мы убиваем все неспороносные формы и оставляем в живых спороносные, в том числе и *B. anthracis*.

Во второй порции мы проращиваем споры анаэробов, которые в сахарной среде превращаются в вегетативные формы. Последующее прогревание убивает все неспороносные формы, а также проросшие спороносные анаэробы; остаются лишь спороносные аэробы (и изредка единичные, не успевшие прорасти споры анаэробов). Такая обработка вводит для того, чтобы исключить случайную гибель животного не от *B. anthracis*, а от патогенных видов анаэробов.

Третью порцию мы употребляем для посева и заражения, чтобы избежать ошибочных выводов из-за гибели во время прогревания не особенно стойких иногда форм спор *B. anthracis*.

**З а с е в.** Первую порцию засеивают на 3 чашки, а третью на 5 чашек обыкновенного агара. Посев производится шпателью Дригальского последовательно на одну за другой чашку и не прокаливая шпателя.

Через 24—48 часов исследуют посевы, ищут подозрительные колонии, выделяют чистые культуры и проверяют их опытом на животных и посевом на питательные среды по обычным правилам.

**З а р а ж е н и е   ж и в о т н ы х.** Каждой из трех порций заражают мышей в кожный кармашек, причем края разреза следует изрезать ножницами для большего повреждения кожи и при зараже-

нии втирать материал главным образом в разрез кожи. Павшие животные исследуются обычным способом.

См. также главу об исследовании почвы.

### И с с л е д о в а н и е   в о д ы   н а   *V. cholerae asiatica*

Нахождение в воде *V. cholerae asiat.* уже представляется более легким и надежным делом, чем нахождение *B. typhi*. Попадая в обычную воду, *V. cholerae asiat.* живет в ней по 5—20 дней.

При исследовании на *V. cholerae asiat.* применяется также метод накопления, но основанный на другом принципе. Основной щелочной пептоновый раствор смешивают с десятикратным количеством исследуемой воды, при этом получается питательная среда с концентрацией обычной щелочной пептонной воды, засеянная микробами, находившимися во взятом объеме воды. Посев ставят на 18 часов в термостат. Так как щелочная пептонная вода при 37° представляет условия, благоприятствующие главным образом развитию холерного вибриона, и не представляет таковых для огромного большинства обычных водных микроорганизмов, то при таком посеве происходит накопление холерных вибрионов, размножающихся быстрее, чем остальные микробы. Затем ввиду резко выраженных аэробных свойств холерного вибриона он концентрируется по преимуществу на поверхности среды, образуя пленку.

Если мы сделаем пересев с пленки на чашку щелочного агара, то в случае присутствия холерного вибриона мы будем иметь рост холерных колоний среди колоний других микробов воды. Выделяя чистые культуры и идентифицируя их специфической сывороткой, мы устанавливаем диагноз.

Для высева с пленки кроме щелочного агара предложены еще среды с более резко выраженными элективными свойствами, а именно: агар Dieudonné, представляющий смесь трех частей дефибринированной крови, смешанной с равным количеством нормального раствора едкого кали и семи частей нейтрального агара. Если едкий кали заменить содой, получится Pilon-агар, имеющий то преимущество, что после приготовления из среды выделяется меньше амиака, чем из среды Dieudonné.

На этих средах колонии почти всех микробов, не исключая *B. coli*, развиваются скудно, а *V. cholerae asiat.* дает удовлетворительный рост.

Далее предложена для высева среда Aronson, построенная на принципе среды Эндо: на ней колонии вибрионов вырастают красными, а колонии *B. coli* и других микробов—бесцветными, что позволяет с большей легкостью находить колонии вибрионов.

Ход исследования воды на холерного вибриона следующий. В 10 колбочек емкостью в 200—250 см<sup>3</sup>, содержащих каждая по 10 см<sup>3</sup> основного пептонного раствора, добавляется по 100 см<sup>3</sup> исследуемой воды. Поверхность должна быть возможно большей,—поэтому употребляют колбы большего размера, чем требовал бы объем жидкости, и засевают все количество воды не в одну большую колбу, а в 10 маленьких.

Засеянные колбы ставят в термостат при 37° на 8—12—18 часов, практически до утра следующего дня, когда делают мазки из пленок

и высевают по одной петли с пленки каждой колбы на чашки с агаром (или средами Dieudonné, Pilon-агар, Aronson) и через 18—24 часа исследуют посевы. Отмечают не менее десяти подозрительных колоний, делают из них мазки, окрашивая их просто разведенным раствором фуксина и в случае наличия вибрионов производят ориентирующую пробу (если позволяет величина колоний) и делают высев чистых культур. В качестве мазков можно брать высохшие капли от ориентирующей пробы аглютинации.

Вид колоний холерного вибриона на агаре: нежные круглые колонии, большей частью прозрачные с голубоватым оттенком. Возможность появления колоний варианта вибриона заставляет в случае отсутствия типичных колоний исследовать и более мутные желтоватые колонии.

Производство ориентирующей пробы: на предметное стекло наносят с одной стороны каплю сильной агглютинирующей сыворотки, разведенной 1 : 100, с другой стороны—каплю физиологического раствора; затем в каждой капле растирают ничтожное количество культуры из колонии, держа стекло над темным фоном так, чтобы капля лишь слегка замутилась. В случае положительного результата уже через несколько секунд появляются хлопья в капле с сывороткой.

Данная проба является ориентирующей, и поэтому и положительный и отрицательный результаты ее не исключают постановки обычной пробы аглютинации в пробирках с чистой культурой.

Из двух-трех колоний вибрионов (в случае отрицательного результата ориентирующей пробы или невозможности ее произвести) высевают чистые культуры на косой агар. На следующий день проверяют чистоту культур и производят реакцию аглютинации по следующей схеме.

В 10 пробирок вносят по 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора. В 1-ю добавляют 1 см<sup>3</sup> холерной агглютинирующей сыворотки, разведенной 1 : 100, смешивают и 1 см<sup>3</sup> смеси переносят во 2-ю, смешивают и 1 см<sup>3</sup> смеси из 2-й пробирки переносят в 3-ю и т. д. Из 9-й пробирки 1 см<sup>3</sup> выливают вовсе. 10-я пробирка будет содержать чистый физиологический раствор. Таким образом мы получим в каждой пробирке по 1 см<sup>3</sup> агглютинирующей сыворотки в разведении:

№ пробирки	Разведение
1	1 : 200
2	1 : 400
3	1 : 800
4	1 : 1 600
5	1 : 3 200
6	1 : 6 400
7	1 : 12 800
8	1 : 25 600
9	1 : 51 200

10 (1 см<sup>3</sup> физиологического раствора) контроль

В каждой из пробирок растирается по одной петле подозрительного вибриона. Пробирки затыкаются пробками и ставятся на 2 часа при 37° и до утра—при комнатной температуре.

Чтение результатов производится невооруженным глазом; только осмотр характера хлопьев производится с помощью лупы.

В случае положительной агглютинации в разведении 1 : 1 600 выделенный вибрион можно считать холерным; в случае отсутствия агглютинации или меньшей силы ее для признания данного вибриона подозрительным необходимо изучить биохимические его свойства, чтобы установить его идентичность в этом отношении с холерным (Штуцер).

Для этого мы засеваем культуру в пестрый ряд:

1. Бульон Hottinger.
2. Lasmus Molke.
3. Среда Барзикова с глюкозой.
4.    »       »       »    лактозой.
5.    »    Hetsch    »   маннитом.
6. Желатина.
7. Свернутая сыворотка.

Идентификация холерного вибриона производится согласно следующему описанию его признаков.

**Признаки *V. cholerae asiaticae*. Морфология.** Холерные вибрионы в типичной своей разновидности представляют собой отрезок спирали и при рассматривании сверху имеют вид изогнутой палочки (холерная запятая). Но очень часто мы не находим и в faeces и в культурах типичных форм. Полиморфизм вибрионов может зайти далеко. Они могут иметь вид почти прямолинейной палочки, буквы S, спирали, нитей.

Такой полиморфизм заставляет быть осторожным, и в случае ненахождения колоний типичных вибрионов следует произвести полное исследование наиболее типичных колоний с наиболее типичными морфологическими микробами. Спор холерные вибрионы не образуют и обладают хорошо выраженной подвижностью, обусловленной присутствием на одном из концов жгутика. Так как по данным ряда авторов холерный вибрион обладает одним жгутом, в то время как многие вибрионы обладают несколькими жгутиками, то это может служить отличительным признаком. В отношении окраски холерный вибрион принадлежит, как и все вибрионы, к грамотрицательным микробам. Обычный способ его окраски—разведенный карболовый фуксин Pfeiffer— $\frac{1}{2}$ —1 минуту.

**Биохимические свойства.** В бульоне Hottinger и в пептонной воде растет с образованием мути и пленки и образует индол. Так как при этом нитраты переводятся в нитриты, то прибавление к культуре нескольких капель одной лишь серной кислоты дает розовое окрашивание. Как известно, при производстве реакции Сальковского на индол мы прибавляем к культуре раствора азотистокислый калий и затем серную кислоту—получается розовое окрашивание. В данном же случае первый реактив уже имеется в культуре благодаря восстанавливающему действию холерного вибриона. Далее по данным Бердникава, Baerthlein и Штуцера холерный вибрион производит следующие изменения в различных средах пестрого ряда.

Lasmus Molke: щелочеобразование в верхних и иногда редукция в низших слоях питательной среды; на 5—7-й день наблюдается образование кислоты, только пленка на поверхности среды остается синей. Среда Барзикова с глюкозой: образование кислоты через

24 часа; газа и свертывания нутрозы нет. Среда Барзикова с лактозой: кислоты, газа и свертывания нутрозы не получается; редукция, начинающаяся с глубины, с 2—3 суток. Среда Hetsch с маннитом: кислота через 24 часа; газ не образуется; иногда редукция; желатина и свернутая сыворотка разжижаются. Молоко: свертывание, но не постоянно; иногда запаздывает до 8 дней, а иногда створаживания и вовсе не наступает.

Далее некоторые виды холерных вибрионов обладают гемолитическими свойствами и разлагают крахмал (реакции Kodama и Takeda), но свойства эти непостоянны и потому ненадежны и не могут быть употребляемы в качестве дифференциальных признаков для отличия от других видов вибрионов, как это предлагается некоторыми авторами.

**Форма колоний на агаре.** Холерный вибрион встречается в виде двух вариантов, описанных Baerthlein: 1) прозрачные стекловидные голубоватые колонии содержат хорошо и равномерно окрашивающихся вибрионов; 2) образуют более мутные, опаловые, беловато-желтоватые колонии, содержащие толстые вакуолизированные вибрионы.

Наконец из остальных признаков важным для диагноза является реакция агглютинации специфической сывороткой. В случае положительной реакции до высокого титра диагноз ясен. Но по наблюдениям Златогорова, Горовиц-Власовой и др. могут встречаться неагглютинирующиеся холерные вибрионы; утрата ими способности агглютинироваться обычно бывает временной. С другой стороны, многие холероподобные микробы могут давать агглютинацию даже до разведения 1 : 500. Все это по мнению Штуцера должно пошатнуть значение реакции агглютинации как признака, абсолютно постоянного для холерного вибриона, и выдвинуть на первое место определение основных биохимических свойств его. В особенности это важно при выделении неагглютинирующихся вибрионов.

При дифференциальной диагностике вибрионов, выделенных из воды, следует иметь в виду, что в воде могут встречаться: а) холероподобные вибрионы, по своим биохимическим свойствам идентичные или почти идентичные холерному вибриону; б) вибрионы-щелочеобразователи и микробы группы *B. faecalis alkaligenes*. Последние часто морфологически напоминают вибриона (а так как вибрионы сами иногда имеют вид тонких палочек, то морфологическая их дифференцировка трудна). Биохимически те и другие представляют резкие отличия от холерного вибриона. Именно все они в пестром ряду обладают негативными свойствами, не образуют кислоты ни из одного углевода; напротив, производят в довольно резкой степени щелочеобразование в *Lactus Molke*; разжижения желатины и сыворотки также не происходит; индол не образуется. В то же время некоторые штаммы вибрионов-щелочеобразователей и *B. faecalis alkaligenes* могут агглютинироваться холерной агглютинирующей сывороткой до разведения 1 : 500. Несмотря на это указанные виды ни в коем случае не могут быть отнесены к культурам, подозрительным на *V. cholerae asiaticae*.

Культуры же, идентичные по биохимическим свойствам, не говоря уже о слабо агглютинирующихся, но и неагглютинирующиеся вовсе,

должны рассматриваться как подозрительные на *V. cholerae asiaticae*.

Иногда агглютинабельность может быть восстановлена многократными пересевами на щелочном агаре. Что же касается реакции Исаева—Pfeifer на бактериолиз, то в настоящее время она имеет лишь исторический интерес и потеряла с появлением реакции агглютинации всякое практическое значение.

## КРАТКИЕ ДАННЫЕ О БИОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ ВОДЫ

Между химическим составом воды и составом ее населения, состоящим из бактерий, грибов и водорослей—простейших и коловраток,—существует определенная зависимость.

Дело в том, что разные организмы по-разному относятся к растворенным и взвешенным в воде веществам. Одни требуют определенных органических веществ для своего питания, другие, наоборот, даже не переносят их присутствия в воде. Организмов, живущих в воде, насчитывают много тысяч, но согласно исследованиям Kolkwitz и Marsson из этой массы можно выделить только около 1 000 так называемых показательных организмов, отличающихся своей особой чувствительностью к содержанию в воде органических веществ или продуктов их минерализации и окисления (как количественному, так особенно и качественному). Одни из них могут жить лишь в чистой, бедной органическими веществами воде, процессы минерализации белков в которой доведены до  $N_2O_5$ , и содержащей сотни и десятки бактерий в  $1\text{ см}^3$ . Это будут олигосапробы (*O*). Другие живут по преимуществу в воде менее чистой, содержащей  $NH_3$ ,  $N_2O_3$  и  $N_2O_5$  и десятки тысяч бактерий в  $1\text{ см}^3$ . Это— $\beta$ -мезосапробы ( $\beta m$ ).

Третьи живут уже в слабо очищенных сточных водах, содержащих  $NH_3$ , аминокислоты, амиды, с полуанаэробными условиями существования и наличием восстановительных биохимических процессов с сотнями тысяч бактерий в  $1\text{ см}^3$ — $\alpha$ -мезосапробы ( $\alpha m$ ).

Наконец четвертые являются обитателями чисто сточных вод, содержащих белки, с биохимическими процессами только восстановительного характера, происходящими в анаэробных условиях, и с сотнями тысяч миллионов бактерий в  $1\text{ см}^3$  воды—полисапробы (*p*). Микроорганизмы каждой из этих групп как правило живут в воде, имеющей соответствующий химический состав и следовательно соответствующую степень загрязнения или чистоты, и не живут в водах с другим химическим составом, соответствующим другой группе организмов.

Поэтому нахождение представителя какой-либо группы в воде будет свидетельствовать о соответствующей степени загрязнения.

Но при оценке воды надо считаться с тем обстоятельством, что в воде имеется много тысяч организмов, из которых лишь одна тысяча является показательными организмами, а остальные зачастую могут существовать как в водах загрязненных, так и в чистых, и поэтому их присутствие ничего нам не говорит. Вместе с тем часто разница в морфологических признаках организмов, могущих быть отнесенными к показательным и непоказательным, настолько ничтожна, что дифференцировка их представляется затруднительной.

Поэтому определять организмы, встречающиеся в воде, надо вполне точно и в случае малейших сомнений и расхождений лучше вовсе не диагностировать. Поэтому заниматься биологическим исследованием воды может лишь специалист-биолог, хорошо изучивший это дело.

Далее следует помнить, что при загрязнении обычной питьевой воды присутствие органических веществ бывает сравнительно ничтожно, и поэтому мы не можем рассчитывать во всех случаях практически опасной в санитарном отношении воды находить преобладание показателей загрязнения. Зачастую их находят лишь в виде отдельных экземпляров, но и этого, если в особенности имеется несколько видов, достаточно для отрицательного суждения о воде с точки зрения биологического анализа (об этом см. ниже).

Вполне ясно, что обычные питьевые воды не могут содержать флору и фауну сточных вод, хотя бы и достаточно очищенных, а метод биологического анализа достаточно точно различает сточные (полисапробные), очищенные (плохо и хорошо) сточные и практически (олигосапробные) чистые воды. Конечно такое деление является слишком грубым для санитарной оценки воды, где надо учитывать и улавливать даже небольшие загрязнения. К сожалению биологический метод в этом отношении не дает пока вполне точных результатов. Правда, Бачинским предлагается установить ряд переходных формул для воды кроме  $p$ ,  $\alpha m$ ,  $\beta m$ ,  $O$ , а именно: он вводит например обозначение  $O, O-(\beta m)$ ,  $O-\beta m$ ,  $(O)-\beta m$ ,  $\beta m$  и т. д. Эти формулы характеризуют планктон вод, стоящих между олигосапробными и  $\beta$ -мезосапробными водами. Но это не меняет дела, так как организмы не могут быть такими точными реагентами, чтобы чувствовать небольшие изменения в составе воды. При оценке на основании биологического исследования речь идет не о нахождении организмов, свойственных данной степени чистоты воды, а о количестве организмов из группы  $p$ ,  $\alpha m$  и  $\beta m$  сапробов, которые вместе с загрязняющими жидкостями попадают в общий водоем и в зависимости от большей или меньшей степени загрязнения встречаются в воде данного водоема в большем или меньшем количестве.

Отсюда видно, что не только нахождение определенных организмов имеет значение для биологической оценки воды, но и их количественное соотношение.

Вопрос о точной оценке различных степеней чистоты п и т ь е в ы х вод нуждается еще в дальнейшей проработке. Но все же даже при современном уровне знаний биологический метод является ценным подспорьем для санитарной оценки воды наряду со всеми другими методами исследования. При биологическом исследовании воды мы изучаем следовательно гидрофлору и гидрофауну; та и другая разделяются на два биоценоза: 1) к б е н т о с у относятся организмы, живущие на дне водоема и обрастающие различные подводные предметы; 2) п л а н к т о н составляется из организмов, живущих в толще воды, и 3) н е й с т о н—организмы, составляющие пленку на поверхности воды. Планктон и нейстон обычно изучаются вместе.

Кроме живых организмов, обитающих в толще воды (биосестон), в ней могут находиться частицы мертвого характера (абиосестон),

разделяющиеся по месту своего нахождения на планктонический и нейстонический тетриты. Исследование абиосестона имеет также значение для санитарной оценки воды; в нем могут встречаться показатели загрязнения: обрывки поперечнополосатых мышечных волокон, остатки непереваренной животной пищи, волосы, волокна тканей, зерна крахмала, картофельная шелуха, кусочки синьки, кусочки каменного угля, древесины, извести и кирпича.



Рис. 13. Раздвижная палка и планктонный сачок (по Вислоуху).

### Техника собирания материала

**Собирание планктона.** Для собирания планктона пользуются специальной планктонной сеткой Kolkwitz (рис. 13), которая представляет собой сачок, обычно из шелкового газа № 20, ячейки которого имеют сторону длиною в 75  $\mu$ , прикрепленный на медном кольце. Нижний конец сачка переходит в металлический цилиндр, оканчивающийся резиновой трубкой с зажимом. При собирании материала сачок либо надевают на раздвижную палку либо привязывают за кольцо на веревку (в случаях сбора с лодки). Для собирания материала сначала погру-

жают сачок в воду острым концом вниз так, чтобы в сачке не осталось пузырей воздуха, и несколько раз промывают с открытым зажимом резиновой трубки, после чего зажим закрывают и тащат за лодкой или, если собирают с моста или берега, проводят много раз под водой так, чтобы только небольшая часть кольца высовывалась над водой. Таким образом процеживают воду через это шелковое сито, пока в сетке не накопится достаточное количество мути, видимой простым глазом. Тогда многократным погружением сачка в воду, не доходя до верхнего кольца, смывают весь планктон со стенок сачка в цилиндр (для ускорения удаления жидкости можно обжимать сачок руками). После этого, открывая зажим резиновой трубки, спускают собранный планктон в банку емкостью в 40—50 см<sup>3</sup> с корковой пробкой, соответствующим образом этикетированную.

Затем приступают к сбору бентоса. Наиболее удобным для сбора донного населения при илистом дне является илосос Перфильева (рис. 14).

Илосос представляет собой U-образную латунную трубку с неравными концами. К длинному прикрепляется груз, к короткому — банка для собирания материала. Через короткое колено от конца, входящего в пробку, закупоривающую банку, идет тонкая трубка, проходящая наружу. К этой трубке прикрепляется длинная резиновая трубка, закрытая в верхнем конце зажимом. Прибор привязывается за веревку. Для сбора ила бросают прибор в нужном месте, держа за веревку и резиновую трубку. Когда прибор упадет на дно,

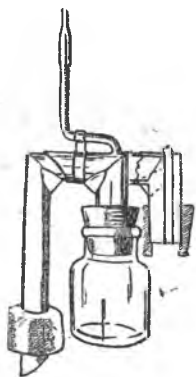


Рис. 14. Илосос Перфильева (по Вислоуху).



открывают зажим резиновой трубки, и ил под давлением слоя воды, находящегося над прибором, войдет в банку. После этого вытаскивают прибор за веревку, снимают, закупоривают и этикетировывают банку.

Для сбора обрастаний подводных предметов употребляют еще: 1) сачок со скребком (рис. 15), которым скребут наросты, попадающие в сачок; 2) грабельки со скребком (скребком отрывают подводные растения, а грабелями их подцепляют); 3) острую ложку с длинной ручкой для тех же целей.

Собранный материал, заключенный в банку, доставляется в лабораторию. Желательно произвести исследование в тот же день, так как при стоянии характер населения может меняться. В случае невозможности исследовать материал в тот же день добавляют 10% формалина (40%), и тогда пробу можно не исследовать в течение долгого времени; правда, часть организмов в фиксированном материале становится неузнаваемой.

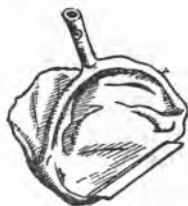


Рис. 15. Сачок со скребком (по Вислоуху).

### Техника исследования

Из проб, доставленных в лабораторию, на предметном стекле делаются препараты под покровным стеклом и исследуются при сухих объективах под микроскопом, причем главное внимание обращают на организмы, наиболее частые в данной пробе; их стараются точно определить (если это не удастся, то их не принимают во внимание).

Определенные организмы записываются в протокол с указанием частоты их находок, которая обозначается следующим образом:

m . . .	massenhaft—масса преобладают
sh . . .	sehr häufig—очень часто
h . . .	häufig—часто, не менее 10 в препарате
ns . . .	nicht selten—нередко, меньше 10 в препарате
s . . .	selten—редко, 3—4 в препарате
ss . . .	sehr selten—очень редко, 1—2 в препарате

При оценке следует принимать во внимание организмы, которые встречаются не реже, чем 10 в препарате, т. е. ns. Если же организмы, встречаемые реже, в сумме всех видов составляют значительную часть всего планктона, то и они принимаются во внимание.

Исследование ведется таким образом: обнаруженные на нескольких препаратах виды определяют при помощи ключа-определителя и рисунков, сличают с подробным описанием и рисунками соответствующего организма для подтверждения диагноза и записывают в протокол с обозначением частоты. Из всех данных составляют суждение о характере сообщества флоры и фауны в данном водоеме и по частоте представителей той или иной группы сапробов и характеру мертвого планктона характеризуют данную воду как: 0—олигосапробную, 0— $\beta$ m—переход олиго- в  $\beta$ m—мезосапробную,  $\beta$ m мезосапробную и т. д. По Бачинскому можно ввести гораздо больше переходных ступеней.

Затем таким же порядком исследуется бентос, который обычно бывает на одну ступень дальше в сторону полисапробов, чем планктон.

Окончательный результат можно выразить одним знаком.

При выборе последнего учитываются все данные исследования. Например если планктон найден  $O-\beta m$ , а бентос  $\alpha m-\beta m$ , то общий вывод— $\beta m$ , ибо бентос нормально при планктоне  $O-\beta m$  должен быть  $\beta m$  (приблизительно), а если он— $\alpha m-\beta m$ , то надо снизить степень и для планктона. Таким образом могут быть до известной степени скорректированы случайные неточности.

Для разработки вопроса применения данных биологического исследования для санитарных целей видимо необходим количественный учет планктонных микроорганизмов, осуществляемый при помощи специальных камер для количественного анализа планктона.

Биологический анализ воды представляет собою большую и обособленную от бактериологии область. Поэтому дать более или менее исчерпывающие сведения о нем в рамках настоящей книги невозможно. Желаящие получить более детальные указания и материал для определения различных организмов найдут их в соответствующей специальной литературе. Список ее, достаточно подробный, приводится в книге: «Стандартные методы исследования питьевых и сточных вод», Москва, 1927, стр. 212—217.

## ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ

Санитарная оценка воды представляет значительные трудности. Один бактериологический анализ далеко не всегда дает достаточные основания для браковки воды: они имеются лишь при нахождении в воде патогенных микроорганизмов; тогда вода, каковы бы ни были ее химический состав, данные общего бактериологического исследования и пр., признается негодной.

Если же патогенных микроорганизмов в воде не обнаружено, то большей частью мы оцениваем воду на основании результатов всех исследований воды: общего бактериологического, химического, биологического и санитарно-топографического обследования водоема.

Сами по себе результаты бактериологического исследования имеют лишь относительную ценность. Они приобретают большее, почти абсолютное значение, когда речь идет о сильно загрязненной воде, содержащей десятки тысяч микробов в  $1\text{ см}^3$  и имеющей титр кишечной палочки в  $0,1\text{ см}^3$  и ниже. Такая вода опять-таки, если мы уверены в отсутствии технических погрешностей (в том числе и условий транспортировки), независимо от результатов других исследований может быть признана негодной.

С другой стороны, получение единиц колоний при посеве  $1\text{ см}^3$  и титра кишечной палочки в  $500\text{ см}^3$  и более говорит за чистую воду, но осторожность заставляет подкрепить эти данные другими исследованиями—химическими и санитарно-топографическими, чтобы быть уверенным в неслучайности полученных результатов. Когда же дело идет о воде средней чистоты, т. е. когда мы имеем тысячи микробов в  $1\text{ см}^3$  и титр кишечной палочки колеблющимся от 1 до

100—200 см<sup>3</sup>, то оценка в смысле признания ее неудовлетворительной, сомнительной или удовлетворительной представляет подчас значительные затруднения. Приходится подвергать тщательному изучению данные всех исследований и на основании совокупности признаков делать вывод.

Далее следует указать, что однократное исследование источника является в большинстве случаев недостаточным для выводов: необходимо производить многократные исследования. Из каждого источника нужно хотя бы один раз в сезон брать пробы воды.

При центральных же водоснабжающих установках необходимо вести более частый контроль—вплоть до еженедельного и даже ежедневного.

Для ориентировки, какие результаты бактериологического анализа позволяют считать воду хорошей, удовлетворительной и т. п. предложены схемы. Схемы эти имеют крайне относительное значение в особенности в указанном выше интервале, как раз особенно важным для обычных исследований воды открытых водоемов в сельских местностях. Особенно же малую ценность представляет схема, основывающаяся при суждении о качестве воды на числе колоний, так как целый ряд условий, ничего общего с опасным в санитарном отношении загрязнением не имеющих, может повести к значительным колебаниям числа бактерий.

Хлопин предлагает для оценки воды по химическому составу вырабатывать порайонные нормы, ибо практика показала, что общих норм для химического состава воды не существует. Присутствие большого количества хлористых соединений в одном районе является признаком загрязнения, а в другом, например с солончаковой почвой, может не иметь никакого санитарного значения.

Такие же нормы по-моему могут быть выработаны и для бактериологического анализа. Воды с большим содержанием органических гуминовых веществ, не служащих, как известно, показателями загрязнения воды, конечно будут содержать большие количества бактерий.

Можно даже устанавливать нормы для одного водоема: резкое ухудшение качества воды этого водоема, хотя бы бактериологический состав его воды сравнительно с условными общими нормами был удовлетворителен, будет сигнализировать об опасности.

В отношении же колодцев (Рубнер) невозможно установить нормы даже для одного и того же источника, ибо колебания, особенно для насосных колодцев, очень значительны и часто не зависят от загрязнений, опасных в санитарном отношении.

Общие же нормы для питьевой воды следующие:

#### С х е м а М и к е л я

Количество колоний в 1 см <sup>3</sup>	Вода
0—10	Чрезвычайно чистая
10—100	Весьма чистая
100—1 000	Чистая
1 000—10 000	Посредственная
10 000—100 000	Нечистая
100 000 и более	Весьма нечистая

### Схема Whipple

Coli-титр	Вода
100 см <sup>3</sup> и более	Здоровая
10 »	Достаточно здоровая
1 »	Сомнительная
0,1 »	Нездоровая
0,01 »	Совершенно нездоровая

Воду с coli-титром 10 см<sup>3</sup> лучше считать условно здоровой, а с 1 см<sup>3</sup> нездоровой

### Схема Vensan'a

Количество В. coli в 1 л	Вода
0—10	Очень хорошая
10—50	Хорошая
100—1 000	Посредственная
1 000—10 000	Подозрительная
10 000 и более	Очень плохая

Большое значение имеет бактериологический анализ при контроле различных водоочистительных сооружений и й. Тут он часто является единственным способом, могущим дать возможность судить о степени очистки, ибо химический состав почти или вовсе не изменяется. Даже определение общего количества бактерий имеет здесь большое значение.

Можно считать очистительную установку выполняющей свое назначение, если после прохождения через нее вода будет содержать не более 3% числа бактерий, содержавшихся в 1 см<sup>3</sup> до очистки, но не более чем 100 колоний в 1 см<sup>3</sup> (если вода до очистки имела более 3 000 колоний в 1 см<sup>3</sup>). Coli-титр должен подняться до 500 см<sup>3</sup> и более. Контроль больших центральных водоочистительных сооружений должен проводиться по крайней мере ежедневно, по возможности в разное время, для испытания работы установки при различном расходе воды в разное время дня.

Итак, современная оценка воды на основании бактериологических исследований зиждется на определении общего числа микроорганизмов и coli-титра.

Сделанное в прежнее время предложение—судить о загрязнении воды на основании относительного количества разжижающих желатину колоний (Koch)—теперь оставлено, так как разжижение желатины не является признаком санитарной опасности микроорганизма.

Мы не можем также судить о качестве воды на основании большего или меньшего разнообразия различных видов микроорганизмов, как это было предложено Migula и даже сейчас применяется на практике во Франции, ибо разнообразие видов микроорганизмов далеко не всегда связано с загрязнением водоема (Metz).

Испытание воды биологическим методом на животных, как это делается во Франции, практического значения не имеет, так как пока найдено лишь несколько видов возбудителей нагноения у животных, а вопрос о патогенности их для человека остается открытым.

Изучение всей флоры данного водоема на практике нигде не применяется, так как это сложный анализ, не дающий достаточных данных для санитарной оценки воды. Такое исследование может иметь лишь теоретический интерес.

Из дополнительных исследований интересно и дает полезные данные для санитарной оценки воды исследование на кишечных анаэробов путем засева в среду Wilson-Blair. Наличие более 2 колоний анаэробов при посеве 10 см<sup>3</sup> воды заставляет считать воду загрязненной. Последнее исследование интересно тем, что количество анаэробов в воде не должно подвергаться сильным колебаниям (поскольку речь идет о питьевой, т. е. вообще относительно чистой воде), так как в воде анаэробы почти не размножаются и в то же время благодаря своей стойкости мало гибнут. Это исключает влияние на оценку воды различных случайных причин. Так, на результаты этого анализа не могут сильно влиять условия транспортировки.

Следует отметить, что метод этот неприменим к воде, например подвергавшейся хлорированию, так как обычно кишечные анаэробы не погибают при этом и почти целиком обнаруживаются в воде после хлорирования.

При оценке воды зимних проб мы нередко имеем расхождение между данными бактериологического и химического исследований: первые дают лучшие результаты. Это может быть объяснено различно: либо отмиранием *V. coli* в загрязненных слоях почвы, причем новые порции ее не поступают ввиду замерзания поверхностных слоев, органические же вещества и пр. могут попрежнему поступать в водоем, или тем обстоятельством, что даже типичная *V. coli*, происходящая из фекаес теплокровных, при попадании из воды с температурой около 0° сразу в температуру 46° не может производить брожения.

В таких случаях можно рекомендовать поставить незабродившие посевы при 37°, и если они забродят, то сделать отсевы в пробирки с разведенной средой Bulir при 46°, которые исследуются даже обычным способом.

Иногда же может явиться надобность в повторении исследования с постановкой посевов сразу при 37° и последующим высевом, как только что было указано.

В заключение следует остановиться на вопросе о вездесущности *V. coli*. Вопрос этот еще недавно был очень спорным. Многие исследователи считали, что *V. coli* так вездесуща, что на основании ее нахождения нельзя считать воду загрязненной, но дальнейшие исследования показали, что практически дело обстоит не так. В очень чистых водоемах, безупречных в санитарно-топографическом отношении, *V. coli* может быть обнаружена лишь в очень больших объемах воды, практически же ее там нет.

Это обстоятельство в связи с разработкой вопроса о различных группах *V. coli* при помощи 46° пробы и американских тестов в настоящее время позволяет прийти к выводу, что определенные виды микробов группы *V. coli* могут являться, если находятся в достаточном количестве, абсолютными показателями загрязнения воды, хотя некоторые исследователи (Wojan и др.) считают, что это возможно лишь при отсутствии расхождения с данными химического анализа.

В итоге можно сказать, что вопрос о бактериологическом испытании воды не может считаться разработанным. Помимо необходимости дальнейшей разработки техники и способов обнаружения в воде патогенных бактерий необходимо уточнить и одновременно упростить

методы дифференцировки между микробами—показателями фекального загрязнения и разными сапрофитами, не имеющими такого значения.

Необходимо также изучить вопрос об отношении между степенью чистоты воды и тем или иным содержанием в воде показателей загрязнения и выработать порайонные и другие, хотя бы условные нормы.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЬДА

Для исследования необходим кусок льда весом не менее 2 кг.

Если проба доставляется в теплую погоду и издалека, то надо брать еще большую порцию.

Лед может быть уложен в опилки (нестерильные).

Проба натурального льда сопровождается указанием на санитарную топографию водоема. В лаборатории очищают лед от опилок, обмывают его стерильной водой. Затем стерильным топориком отсекают загрязненные наружные слои и из глубины вновь стерилизованным топориком высекают несколько кусков льда и стерильно помещают их в стерильную банку.

Оставляют лед растаять при комнатной температуре. Воду, получившуюся после таяния льда, исследуют так же, как обычную питьевую воду.

Требования в отношении бактериологической чистоты ко льду, применяющемуся для охлаждения продуктов, такие же, как для питьевой воды. Следует иметь в виду, что при замерзании воды во льду оказывается меньше микробов, чем в остающейся воде. Поэтому при санитарной оценке льда, употребляемого внутрь, необходимо даже предъявлять более строгие требования, чем к питьевой воде.

Лучше готовить лед из обезвреженной предварительно тем или иным способом воды.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ ПЛАВАТЕЛЬНЫХ БАССЕЙНОВ

В настоящее время с развитием физкультуры приобретают большое значение, особенно в северной половине СССР, зимние плавательные бассейны, где и зимой население может заниматься плаванием—одним из самых здоровых видов спорта.

Конечно при наличии большого числа купающихся вода бассейна подвергается сильному загрязнению. Например плавательный бассейн ЛСПС в Ленинграде является довольно большим ( $25 \times 10$  м), но несмотря на это он сильно загрязняется, так как в день через него проходит до 600 человек.

Так, *coli*-титр при отсутствии хлорирования и редкой смене воды, что имело место в прежнее время, достигал  $0,01 \text{ см}^3$ , а число бактерий в  $1 \text{ см}^3$  ( $22^\circ$ —3 дня) до 2 000 000. Интересно отметить, что при еженедельной смене воды по понедельникам бактериальное загрязнение достигало максимума к среде—четвергу и затем благодаря самоочищению бесцветными жгутиковыми, появляющимися в воде к этому времени, наблюдалось улучшение бактериологического состава воды. К воскресенью *coli*-титр поднимался до  $10 \text{ см}^3$ , и число бактерий спускалось до тысяч в  $1 \text{ см}^3$ .

Тем не менее, как видно из вышеизложенного, загрязнение воды чрезвычайно сильно, и временами вода бассейна по своим бактериологическим данным приближается почти к сточным водам. Все это вместе взятое заставляет обратить самое серьезное внимание на воду бассейнов для плавания и установить какие-либо критерии для оценки пригодности воды. Ввиду того что при купании пловцы заглатывают воду (иногда в большом количестве—до 500 см<sup>3</sup>), мы должны предъявлять к воде плавательных бассейнов требования не меньшей чистоты, чем к питьевой воде.

Кроме этого описаны случаи заражения в плавательных бассейнах гонореей, инфицирования параназальных синусов (Nasty) гнойными бактериями.

Mallmann считает, что *Streptococcus* является показателем загрязнения воды плавательных бассейнов, и полагает, что значение его как такового больше, чем значение *B. coli*.

Это заставляет при исследовании воды бассейнов обращать внимание и на присутствие этих микроорганизмов.

Никакая чистота смены воды не позволит избежать загрязнения бассейна, так как через 2—3 часа купания загрязнение становится недопустимым. Из способов очистки наиболее рациональным является хлорирование воды, как это делается почти во всех западно-европейских бассейнах. Какие же нормы мы должны поставить себе целью достижения при организации и эксплуатации очистки воды бассейна хлором?

Миллер и Трофимук предлагают следующие нормы: *coli*-титр должен быть выше 10 см<sup>3</sup> и число бактерий меньше 1 000 в 1 см<sup>3</sup>. Специальная комиссия по бактериологическому контролю воды плавательных бассейнов в Америке (*Am. Journ. Publ.*, Н. XVI, № 12) предлагает руководствоваться следующими нормами: не более 10% проб могут содержать более 100 колоний в 1 см<sup>3</sup> и ни одна—более 200 при выращивании при 20° в течение 48 часов; не более 10% проб могут содержать более 1 000 колоний в 1 см<sup>3</sup> и ни одна—более 5 000 при выращивании в термостате при 37° в течение 24 часов. Положительная *coli*-проба может получиться не более чем в двух образцах по 10 см<sup>3</sup> из пяти, собранных в один и тот же день, и не более трех из десяти, собранных в разные дни.

Предлагаемые Миллером и Трофимуком нормы являются приблизительно такими же, но составленными применительно к методике бактериологического исследования вод в СССР.

При контроле воды плавательных бассейнов при их хлорировании надо иметь в виду необходимость брать пробы под конец купания и в разгар его, потому что утренние пробы могут быть стерильными, в то время как вода во время купания будет сильно загрязнена. Это может произойти из-за недостаточности дозы хлора, не убивающей в достаточно быстрый срок микроорганизмы, или при однократном в течение дня хлорировании.

Для получения хороших результатов в воде постоянно должны быть хотя бы следы хлора.

При обследовании планктона плавательного бассейна Миллером и Трофимуком обнаружены: бесцветные *Flagellatae*, *Vorticella microstoma*, *Chilomonas oblonga*; псевдопланктон состоял из шерстя-

ных и хлопчатобумажных волокон (sh), эпителия (s), волос (mh) и детрита. Из микроорганизмов были находимы: *Staphylococcus*, *Streptococcus hemolyticus*, *B. pyocyaneus*, *B. faecalis alkaligenes*. Последний находился почти во всех пробах, а в пробах после хлорирования зачастую составлял главную массу микробов.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТОЧНЫХ ВОД

Исследование сточных вод производится теми же методами, как и питьевых. Только учитывая громадное содержание в них бактерий для посева на счет бактерий и определения *coli*-титра необходимо брать большие разведения. Для приготовления нужных разведений берут 3 пробирки с 10 см<sup>3</sup> физиологического раствора в каждой. В первую вносят 0,1 см<sup>3</sup> исследуемой воды, пипетку оставляют в пробирке с неразведенной водой; после перемешивания содержимого 1-й пробирки свежей пипеткой переносят 0,1 см<sup>3</sup> полученного разведения (1 : 100) во 2-ю пробирку, а пипетку оставляют в 1-й пробирке. Из 2-й пробирки переносят 0,1 см<sup>3</sup> в 3-ю пробирку тем же порядком.

Таким образом мы будем иметь четыре пробирки:

а)	неразведенная вода	
б)	1-я пробирка с водой разведенной . . . . .	1 : 100
в)	2-я       »       »       »       »       » . . . . .	1 : 10 000
г)	3-я       »       »       »       »       » . . . . .	1 : 1 000 000

По приготовлении разведений сеют в агар для счета колоний:

1 см <sup>3</sup> из 1-й пробирки, т. е. . . . . .	0,01
1   »   » 2-й       »       »       » . . . . .	0,0001
1   »   » 3-й       »       »       » . . . . .	0,000001

Подсчет ведут в той чашке, где количество колоний будет более всего приближаться к числам от нескольких десятков до нескольких сот. Подсчет колоний в чашках с единичными колониями или, наоборот, с многими тысячами колоний не дает надежных результатов.

Для большей точности результатов рекомендуется каждое разведение засеивать в две чашки и выводить средний результат.

Для определения *coli*-титра сеют 1 и 0,1 см<sup>3</sup> из неразведенной воды и из каждого разведения—всего в 8 пробирок (1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001; 0,000001; 0,0000001 см<sup>3</sup> исследуемой воды). Для точности результатов каждое количество рекомендуется засеивать в две или три пробирки. Посев производить лучше всего в пробирки с разведенной средой *Bulir* и бродильными трубками. Согласно стандартной методике американцев при исследовании сточных вод можно принимать бродильный титр равным *coli*-титру. Иными словами, не нужно производить высевов на Эндо и последующую идентификацию, а считать наименьший объем, давший брожение, *coli*-титром. Практика показывает, что в сточных водах действительно эти титры совпадают, а если и бывают расхождения, то они неважны, так как большой точности в определении *coli*-титра в сточных водах для санитарии не требуется.



Определение патогенных бактерий в сточных водах производится обычным порядком, как и в питьевых водах, причем кроме обнаружения *B. typhi*, *B. paratyphi*, *B. dysenteriae*, *V. cholerae asiaticae*, *B. anthracis* может производиться исследование на *B. tbc* и др.

Исследования эти имеют большое значение, так как патогенные микроорганизмы являются наиболее опасными из всех загрязнений, могущих быть внесенными со сточной водой в питьевые водоемы. В то же время большая концентрация патогенных бактерий в сточных водах и малый срок их пребывания в них, не дающий возможности им так изменить свою физиономию, чтобы затруднить диагностику, позволяют в значительно большей степени рассчитывать на успех исследования, чем в случаях с питьевой водой.

Во всяком случае при исследовании сточных вод, могущих быть загрязненными патогенными бактериями, по изменению числа бактерий coli-титра после очистки судим о надежности очистки для убивания и патогенных микроорганизмов.

Уменьшение числа бактерий в сточных водах после прохождения через поля орошения по Хлопину достигает 94—99,9%. В периодических биологических фильтрах наблюдалось уменьшение числа бактерий после септического и 2 окислительных бассейнов на 88,1%.

При очистке активированным илом по Хлопину число бактерий уменьшается на 99%.

Количество бактерий в очищенных сточных водах, равно как и количество кишечной палочки, не нормируется, а лишь предъявляются общие требования химического порядка в отношении изменений воды водоемов, куда вливаются очищенные сточные воды.

В сточных водах мы встречаем большое количество микроорганизмов, участвующих в круговороте азота и пр., более подробно описанных нами в главе о почве, причем нитрифицирующие бактерии встречаются крайне редко.

Интересующихся подробно бактериологическим составом сточных вод отсылаем к статье Взорова, посвященной систематике, описанию и методам определения бактерий сточных вод, печатаемых в 15-м выпуске Известий Ростовского микробиологического института.

### Микробиология очистки сточных вод

Биологические методы очистки сточных вод основаны главным образом на процессах разложения органических веществ, происходящих благодаря жизнедеятельности разного рода бактерий, участвующих в круговороте азота, углерода и т. д., описанных более подробно в главе о почве.

При очистке на полях орошения мы имеем обычные самоочищающиеся процессы почвы.

В искусственных биологических фильтрах и в особенности при очистке воды активированным илом, который представляет не что иное, как «созревшую», т. е. установившуюся, ассоциацию гнилостных, нитрифицирующих бактерий и пр., мы имеем те же процессы, но происходящие благодаря улучшенным условиям во много раз более энергично, чем в почве.

Точное изучение состава участвующих при этом микробных ассоциаций, выявление всех условий, благоприятствующих и тормозящих процессы минерализации, равно как и вопросы применения чистых культур для составления этих ассоциаций, представляют важную и благодарную задачу для дальнейших микробиологических изысканий в области очистки сточных вод. Удачное разрешение этих задач может значительно упростить и удешевить методы очистки сточных вод, что небезынтересно при необходимости в кратчайший срок поставить коммунальное благоустройство на должную высоту.

### Обнаружение в сточной воде бактериофага

Исследуемая вода засеивается в основной раствор пептона (как при исследовании воды на холерного вибриона). Посев выдерживается 24 часа при 37°, после чего пропускают через фильтр и фильтр пестыкуют на бактериофаг обычным методом (см. Казарновская, «Бактериофагия», изд. Акад. наук СССР, 1933 г.). Обнаружение бактериофага в чистых водоемах производится таким же способом.

### ОБ ОРГАНИЗАЦИИ ОБСЛЕДОВАНИЯ ВОДОСНАБЖЕНИЯ

При обследовании центральных водопроводных сооружений, как выше было указано, делается по возможности ежедневное исследование.

При большой водопроводной сети бывает чрезвычайно полезно производить выемку проб в различных местах сети для суждения о состоянии этой сети.

Прорыв сети может иногда повести к очень плохим последствиям (ростовская эпидемия 1927 г.).

Обследование небольших водопроводных сооружений в местностях, не имеющих лабораторий, могущих производить анализы воды, должно производиться по возможности раз в месяц, а водоемов сельских местностей (озера, колодцы, реки) по крайней мере 4 раза в году—по сезонам. При таком обследовании через несколько лет можно будет хорошо изучить водоснабжение того или другого района.

Выемка проб производится санитарным врачом или его помощником и направляется в соответствующих условиях в ближайшую лабораторию. В тех случаях, когда расстояние и условия транспорта не допускают быстрой доставки, следует производить посев на месте с транспортировкой засеянного материала в лабораторию. Это можно проводить экспедиционным порядком.

Если обследование четыре раза в год невозможно, производят таковое весной во время половодья, когда имеется наибольшая опасность загрязнения, чтобы знать характер воды в худших условиях.

Все получаемые при обследовании водоисточника данные—санитарно-топографическое описание, результаты бактериологического, химического и биологического исследований—рекомендуется заносить на особые бланки. При повторных исследованиях в санитарно-топографическом описании делаются лишь отметки об изменениях. Результаты анализов вписываются под соответствующей датой. Все

данные относительно водоисточника вкладываются в лист, где ведется запись результатов анализов. Все листы водоемов данного населенного пункта хранятся в отдельных папках.

Для удобства например в случае наличия в одном и том же населенном пункте нескольких колодцев, водоисточники следует перенумеровать как в натуре, так и в протоколах их исследования.

При собирании таким образом материала через несколько лет санитарная организация будет располагать полными и детальными сведениями о водоснабжении своего района, позволяющими ей в случае возникновения кишечных эпидемий принимать те или иные меры.

Далее этот материал может послужить для выработки порайонных норм.

Чрезвычайно интересно сопоставлять данные обследования различных водоисточников с количеством заболеваний желудочно-кишечного тракта как общего характера (диарей и пр.), так и эпидемического (брюшной тиф, дизентерия и пр.). Это позволит подойти к вопросу о степени ценности производимых исследований воды в эпидемиологическом отношении.

Для правильности выводов необходим очень большой материал, который может быть собран лишь при работе всего коллектива санитарных работников по всем уголкам СССР, а не отдельными научными работниками.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

### *1. Примерный план бактериологического исследования воды для практического применения (обычная схема)*

#### Первый день

1. Растопить и поставить охлаждаться агар и среду Wilson-Blair, приготовить среду Bulir, чашки Петри, пипетки, сделать надписи на колбах и пробирках (номер анализа и количество засеянной воды только для 0,1 и 1,0) и пр.
2. Записать в книгу отделения.
3. Взболтать пробу.
4. Посеять 0,1 и 1 см<sup>3</sup> исследуемой воды в среду Bulir (без краски).
5. Посеять 0,1 см<sup>3</sup> исследуемой воды на три чашки с агаром.
6. Посеять 1 см<sup>3</sup> исследуемой воды в одну пробирку (пипетку бросить) и по 10 см<sup>3</sup> в две пробирки со средой Wilson-Blair.
7. Посеять 10 и 100 см<sup>3</sup> исследуемой воды в среду Bulir.
8. Посевы на среды Bulir, Wilson-Blair поставить в термостат при 46°, а чашки с агаром—две при 22° и одну—при 37°.

#### Второй день

9. Определение бродильного титра. Высев из двух посевов наименьших количеств воды, давших брожение на Эндо. Незабродившие колбы оставить еще на 24 часа.
  10. Счет колоний, выросших при 37° за 24 часа.
  11. Подсчет колоний кишечных анаэробов.
- Сообщение, если нужно, предварительных результатов бродильного титра, числа бактерий в 1 см<sup>3</sup> (37°) и количества кишечных анаэробов в 10 см<sup>3</sup>.

#### Третий день

12. Высев на Эндо из посевов, давших брожение через 48 часов.
13. Исследование посевов на чашки с Эндо, заражение пробирок с 2 см<sup>3</sup> бульона из двух наиболее подозрительных колоний. Поставить в термостат на 2 часа.

14. Посев выделенных культур в пестрый ряд состава отмечать двойным номером: анализа и колонии по черновому протоколу.

15. Подсчет колоний при 22°. Чашки поставить обратно в термостат.

#### Четвертый день

16. Исследование посевов на Эндо от п. 12 согласно п. 13.

17. Посев выделенных культур, как в п. 14.

#### Пятый день

18. Идентификация выделенных культур. Определение *coli*-титра. Подсчет колоний—22°, 4 дня.

#### Шестой день

Только в случае, если имеются подозрительные колонии на Эндо, см. п. 16.

19. Согласно п. 18 без подсчета колонии.

### II. Ведение протоколов анализов

Каждый этап исследования воды следует регистрировать в лабораторном журнале (общий регистрационный журнал анализы проходят особо). Для удобства регистрации следует раз и навсегда выработать определенную форму записи и условные обозначения. В качестве примерной формы ведения протокола может служить следующая (см. ниже).

При этой форме пользуются следующими условными обозначениями: М—муть, Г—газ, Э—высев на Эндо.

При букве Э . . . . .	+	колония типична
» » » . . . . .	±	» подозрительна
» » » . . . . .	—	» неподозрительна или посев стерilen.

Цифры при букве Э . . . номера колоний на среде Эндо.

В. с. + . . . при идентификации типичная *B. coli*; В. с. — . . . не *B. coli*.

W. B. . . . посев на среду Wilson-Blair; цифры при ней—число черных колоний в одной и двух порциях по 10 см<sup>3</sup>. За скобкой—среднее число колоний на 10 см<sup>3</sup>.

Ч. б. 37° . . . . . число колоний при 37° в течение 24 часов

Ч. б. 22°, 3 . . . . . » » » 22° » » 3 дней

Ч. б. 22°, 5 . . . . . » » » 22° » » 5 »

С. т. . . . . *coli*-титр

Бр. т. . . . . бродильный титр

В случае надобности ведется точный протокол идентификации, в который культуры заносятся под номером анализа и номером колонии.

Аналогичная форма журнала может быть применена и при других санитарно-бактериологических исследованиях.

### III. Список лабораторной аппаратуры, инструментов, необходимых для обычного исследования воды

- |                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| 1. Автоклав                       | 12. Пипетки в 1 см <sup>3</sup> с делениями на 0,01 см <sup>3</sup> (стерилизовать обернутыми в бумагу) |
| 2. Термостат на 37°               | 13. Чашки Петри   |
| 3. » » 46°                        | 14. Водяная баня с термометром  |
| 4. » » 22°                        | 15. Предметные и покровные стекла   |
| 5. Стерилизатор сухим жаром       | 16. Ир бирки  |
| 6. Счетчик Вольфгеля с лупой      | 17. Бродильные трубки   |
| 7. Микроскоп                      | 18. Цилиндры измерительные емкостью в 500 и 100 см <sup>3</sup>   |
| 8. Приборы для выемки проб воды   | 19. Восковой карандаш   |
| 9. Скланки для проб воды          |   |
| 10. Платиновая петля и игла       |   |
| 11. Спиртовая или газовая горелка |   |

## Среды

1. Агар по 15 см<sup>3</sup> в пробирках
2. Разведенная среда Bulir в пробирках с бродильными трубками
3. Неразведенная среда Bulir по 5 см<sup>3</sup> в пробирках с бродильными трубками
4. То же в колбах (емкостью в 200 см<sup>3</sup>) по 50 см<sup>3</sup>
5. Стерильная вода по 10 см<sup>3</sup>
6. Среда Эндо в чашках
7. Косой агар
8. Набор сред для пестрого ряда
9. Бульон в пробирках по 2 см<sup>3</sup>
10. Среда Wilson-Blair в пробирках по 40 см<sup>3</sup>

### Примерная форма лабораторного журнала по исследованию воды

№ по порядку	Месц, число и час поступлен. в лабор.	Пред- мет ис- следо- вания	Время выемки пробы	Особые замечания относительно при- своенного материала	От кого посту- пил	ПРОТОКОЛ исследования						Срок изготовления	Подпись производя- щего анализа
293	5/V 12 ч.	Вода из ко- лодца № 1 села NN	5/V 8 ч.	—	№ район- ного санвра- ча	0,1 1,0 10,0	100,0	0	W. B. 5	7	6	11/V	
						м. — +	+	+					
						г. — —	+						
						1	±	3 + ч. б. 37°	—	223			
						Э		Э ч. б. 22°, 3	—	392			
						2	±	4 + ч. б. 22°, 5	—	450			
						В. с. 1	—	В. с. 3	+	бр. т. 10,0			
						2	+	4	+	С. т. 10,0			

## IV. Рецепты сред (упомянутых, но не приведенных в тексте)

### Мясо-пептонный бульон (М. П. Б.).

1. Обливают 500,0 мясного постного фарша 1 000,0 см<sup>3</sup> водопроводной воды.
2. Оставляют 12 часов на холоду (или один час при 50°).
3. Фильтруют через марлю.
4. Добавляют один процент пептона (10,0) и 0,5% поваренной соли (5,0).
5. Кипятят до растворения пептона и добавляют воды до 1000,0.
6. Устанавливают 10% раствором соды или едкого натра pH=7,5 или нейтральную реакцию по фенолфталеину. Для подкисления при избытке щелочей употребляют соляную кислоту или H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Обычно среда для получения нейтральной реакции по фенолфталеину должна требовать 0,5 N/1 NaOH на 100 см<sup>3</sup>.
7. Прогревают в автоклаве при 115° в течение 20 минут.
8. Проверяют реакцию.
9. Фильтруют через бумагу, разливают.
10. Стерилизуют в автоклаве при 115° в течение 20 минут (не выше 115°).

### Мясо-пептонный агар (М. П. А.)

- 1—5 пункты, как в М. П. Б.
6. Добавить в бутылку 2% мелко изрезанного агара (20,0 на литр).
7. Кипятить до растворения агара и добавить воды до литра.
8. Как пункт 6 М. П. Б.
9. » » 7 » » »
10. » » 8 » » »

11. Фильтровать через вату, смоченную кипятком.
12. Как п. 10 М. П. Б.
- (рН для посева воды=7,0).

### Мясо-пептонная желатина (М. П. Ж.)

- 1—5 пункты, как М. П. Б.
6. Добавляют (зимой) 10% желатины (100,0 на литр), летом—15% (150,0 на литр).
7. Кипятят ее до растворения.
8. Как п. 6. М. П. Б.
9. Кипятят 10 минут, если нужно доливают до литра.
10. Охлаждают до 56°.
11. Вливают один куриный белок, разболтанный в 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, и смешивают.
12. Кипятят.
13. Фильтруют через бумагу или вату.
14. Разливают.
15. Стерилизуют при 100° три дня по часу.

Примечание. Вместо мясной воды пп. 1—3 М. П. Б. можно брать 1% раствор мясного экстракта. Просветление белком можно применять и для М. П. Б. и М. П. А. После стерилизации для контроля стерильности—поставить среды в термостат.

### Б у л ь о н Н o t t i n g e r

1. Кипятят 1,5 л воды, бросают в нее килограмм мяса, нарезанного кусками.
2. При закипании снимают с огня, мясо вылавливают и измельчают в котлетной машинке.

3. Воду охлаждают до 40° и прибавляют:

Соли . . . . .	1,5
Панкреатина—чайную ложку с верхом	
Хлороформа . . . . .	20,0
Измельченного мяса . . . . .	1 000,0

4. Ставят при 37° на 2—3 дня или при комнатной температуре на 5—8 дней.
5. Когда все мясо превратится в порошоквидную массу, т. е. когда переваривание окончено, приливают соляной кислоты до слабокислой реакции.
6. Фильтруют через бумагу.
7. Остаток мяса обливают 2 л воды и фильтруют.
8. Оба фильтрата смешивают и кипятят в открытой посуде для удаления хлороформа.

9. Стерилизуют при 105°.

10. Основной раствор разводят в 6 раз следующим раствором:

Дистиллированной воды . . . . .	1 000,0
Поваренной соли . . . . .	7,0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . . . . .	1,0
Подщелачивают и стерилизуют.	

### Среда Bulir

- а) Основной раствор:

Слабощелочного М. П. Б. . . . .	1 000,0
Маннита . . . . .	12,5
Нейтральрота—1% водный раствор . . . . .	6,0

Разлить и стерилизовать при 100° в течение 3 дней по 30 минут или 120°—15 мин.

- б) Разведенный раствор:

Основного раствора . . . . .	1 часть
Воды . . . . .	2 части

Разлить и стерилизовать, как выше.

Минкевич указывает на возможность стерилизации при 120°.

### Среда Eikmann

а) Основной раствор:

Воды . . . . .	100,0
Пептона . . . . .	10,0
Глюкозы . . . . .	10,0
Хлористого натрия . . . . .	5,0

Подщелочить, разлить и стерилизовать, как среду Bulir.

б) Разведенный раствор:

Основного раствора . . . . .	1 часть
Воды . . . . .	7 частей

Разлить и стерилизовать, как среду Bulir.

### Среда Clark

Дистиллированной воды . . . . .	800,0
Пептона . . . . .	5,0
Глюкозы . . . . .	5,0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . . . . .	5,0

20 минут нагревать на водяной бане до 100°, фильтровать, охладить до 20°, долить до литра, разлить по 10 см<sup>3</sup>, стерилизовать при 120° в течение 20 минут (рН=7,0).

### Среда Koser

Фосфорнокислого натр.-амония . . . . .	1,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . . . . .	1,0
Сернокислой магнезии . . . . .	1,0
Лимоннокислого натрия . . . . .	2,5
Воды . . . . .	1 000,0

Разлить по пробиркам, стерилизовать (рН=7,0).

### Приготовление сред Барзикова и Гетча

Среды Барзикова очень часто применяются в бактериологии с целью установления отношения бактерий к тем или иным углеводам. Отличаются они друг от друга только характером углевода. Приготавливаются следующим образом:

1. Дистиллированной воды . . . . .	100,0
Нутрозы . . . . .	1,0
Поваренной соли . . . . .	0,5

2. Кипятить до полного растворения и фильтровать.

3. Прибавить 1% углевода (глюкозы, лактозы, маннита и т. п.).

4. Лакмусовой настойки до сине-голубого цвета (в тонком слое).

5. В случае надобности подщелочить.

6. Разлить по пробиркам (с бродильными трубками), стерилизовать три дня в продолжение 20 минут при 100°.

(Вместо нутрозы можно брать пептон. Рекомендуются углевод и лакмус стерилизовать отдельно и прибавлять стерильно к остальному раствору или нестерильно к уже выросшей культуре).

### Молоко

Свежее снятое молоко разливают по пробиркам и стерилизуют три дня при 100° по 20 минут. Молоко до стерилизации можно подкрасить лакмусом.

### Лакмус Molke

Молоко подкисляют соляной кислотой до свертывания казеином. Отфильтровывают, подщелачивают и подкрашивают лакмусовой настойкой, разливают и стерилизуют три дня при 100° по 20 минут.

## Свернутая сыворотка

Кровь быка берется по возможности стерильно. Ставится в термостат на 2 часа, сгусток отделяют от стенок, отстаивают сыворотку на холоду, отсасывают, разливают стерильно по пробиркам, свертывают в наклонном положении, медленно поднимают температуру до 70—80°. Стерилизуют 5 дней подряд при 70—80° по часу.

### Среда Эндо

3% нейтрального М. П. А. . . . .	1 000,0
10% кристаллической соды . . . . .	10,0

Разлить по 100 см<sup>3</sup> и простерилизовать в автоклаве. Перед употреблением расплавить, охладить до 70° и добавить на каждые 100 см<sup>3</sup> агара:

20% прокипяченного молочного сахара . . . . .	5,0
Насыщенного спиртового раствора основного фуксина . . . . .	1,0

10% водного раствора *Natrium sulfurosum* [готовить ex tempore на стерильной (pH=8,0) дистиллированной воде] приливать до обесцвечивания агара (примерно 3 см<sup>3</sup>).

Разлить по чашкам Петри.

Впрок не готовить. На свету не держать. Рекомендуется фуксин обесцвечивать в отдельной пробирке с сульфитом и такую обесцвеченную жидкость затем приливать к агару.

### Среда Конради-Дригальского (упрощенный метод)

1. 3% слабощелочного М. П. А. расплавить и охладить до 70° . . . . .	100,0
2. 20% прокипяченного молочного сахара . . . . .	7,5
3. Стерильной лакмусовой настойки . . . . .	5,0
4. Водного кристаллвиолета (1 : 1 000) . . . . .	1,0

Если нужно подщелочить, прибавить прокипяченную 10% соду и разлить по чашкам Петри. При посеве испражнений с целью обнаружить дизентерию—кристаллвиолета не прибавлять. Среду эту можно готовить впрок.

Колонии кишечной палочки, как и на среде Эндо, красные. Колонии палочек тифа, паратифа и дизентерий—синие.

### Пептонная вода

Приготовление основного раствора:

1. Дистиллированной воды . . . . .	1 000,0
2. Хлористого натрия . . . . .	50,0
3. Пептона . . . . .	100,0
4. Калийной селитры . . . . .	1,0
5. Кристаллической соды . . . . .	20,0

Прокипятить, если нужно подщелочить, профильтровать, стерилизовать при 120° в течение 15 минут.

Приготовление пептонной воды:

1. Основного пептонного раствора—1 часть.
2. Воды—9 частей.

Стерилизовать при 120° в течение 20 минут.

### Среда Dieudonné

1. 3% мясо-пептонного агара—7 частей.

2. Дефибрированной крови (быка или барана) в смеси с равным количеством нормального едкого кали, стерилизованного в автоклаве,—3 части.

Смешать, разлить по чашкам Петри и продержат в термостате 1—2 часа и несколько часов при комнатной температуре для удаления аммиака, образующегося из смеси. Среда элективна для вибриона азиатской холеры.



## Среда Аронсон

3 1/2%	стерильного нейтрального М. П. А. . . . .	100,0
10%	кристаллической стерильной соды . . . . .	6,0
20%	стерильного тростникового сахара . . . . .	5,0
20%	стерильного декстрина . . . . .	5,0
10%	спиртового раствора фуксина . . . . .	0,4
10%	кристаллического сульфита . . . . .	2,0

Раствор сульфита натрия готовить перед употреблением на стерильной воде. Грубая муть удаляется отстаиванием, прочая часть среды разливается по чашкам. Холерные вибрионы образуют красные большие колонии. Кишечная палочка образует бесцветные малые колонии.

Щелочной агар-агар pH=8,2—8,4 для холерного вибриона.

Желатина для исследования воды (французский рецепт)

М. П. Б. . . . .	1 л
Желатины . . . . .	зимой 100,0      летом 120,0
Агара . . . . .	» 2,0      » 4,0
Лактозы . . . . .	» 5,0      » —

Подщелочить, прогреть в автоклаве, профильтровать, простерилизовать в течение 20 минут при 110°.

## Желчь

Бычью желчь фильтруют через бумагу, разливают и стерилизуют в автоклаве.

## ГЛАВА ШЕСТАЯ

### МОЛОКО

#### ИСТОЧНИКИ И УСЛОВИЯ БАКТЕРИЙНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВО МИКРОБОВ В МОЛОКЕ

Молоко является прекрасной питательной средой, поэтому понятно, что бактериальная флора его очень богата как в количественном, так и в качественном отношении. Количество микробов в нем бывает так обильно, что несмотря на наличие только сапрофитов молоко становится вредным для детей грудного возраста из-за слишком большого накопления продуктов обмена сапрофитов. Это же свойство молока создает возможность легкой передачи через него патогенных микроорганизмов.

Богатство бактериальной флоры объясняется еще тем, что кроме своих свойств прекрасной питательной среды молоко во время своего пути от молочной железы коровы до потребителя загрязняется из целого ряда источников.

Во-первых, уже в самом вымени молоко содержит микробы; получить стерильное молоко при самых асептических условиях доения удается крайне редко. Особенно много бактерий в сосках, что объясняется размножением и поднятием по складкам слизистой хода соска смоченных молоком микробов, попадающих на наружное его отверстие. Особенно резко это выражено при расслаблении сфинктера от очень энергичного доения.

Стерильное молоко при асептическом доении получается в виде исключения. Обычно же количество микробов доходит до нескольких тысяч (Park, Макринов и др.), а Гаррисон наблюдал даже содержание их в 120 000.

Dorner (Landw. Jahrb. d. Schweiz 1930, S. 463) в среднем обнаружил у 132 коров 7 080 микробов на 1 см<sup>3</sup>; из них 48% *B. lipolyticum* (Evans), 18% микрококков, 32% стрептококков.

Ввиду большого количества микробов в сосках обычно первые порции молока содержат больше бактерий; так например по Шульцу если первая порция содержала 55 566—97 240 микробов, то в средних было 2 060—9 985, а в последних—0—500. Это побуждало законодателей в законах и правилах по молочному делу вводить требование обязательного удаления первых порций молока.

Наличие микробов в вымени кроме проникания по каналам сосцов объясняется еще попаданием через кровь (эксперименты Карлинского с введением стафилококков в кровь и последующим их нахождением через 1½ дня в молоке и Врожека с кормлением). Особенно много микробов бывает при воспалительном состоянии железы.

В качественном отношении микробы вымени являются обычно сапрофитами для человека. Это желтые и белые микрококки, стрептококки (даже в совершенно здоровом вымени) и молочнокислые микробы; последние по одним данным составляют 50—95% всех микробов (Гаррисон, Кох, Рюссель, Фрейденрейх), по другим—их вовсе не встречается (Макринов).

Далее на своем пути до потребителя молоко подвергается загрязнению из многочисленных источников, особенно сильному при негигиенической организации молочного хозяйства. Большую роль играет чистота посуды, в которую производится доение. Плаут нашел для молока, которое при асептическом доении получалось стерильным, следующее содержание бактерий в 1 см<sup>3</sup>.

П о с у д а	Количество бактерий
Стерильная . . . . .	50
Обыкновенная . . . . .	15 000
Общий резервуар . . . . .	60 000

Королев получил следующие результаты:

№ опытов	1	2	3
При доении в стерильный подойник . . . . .	50	165	500
» » » обыкновенный подойник . . . . .	15 000	4 265	50 000

По Бакхаусу и Кранхейму молоко, содержащее при доении в эмалированный подойник 5—1 105 микробов, при доении в деревянный содержало от 25 675 до 279 000.

Из этих данных мы видим, что уже в доильной посуде, если она не обработана соответствующим образом, молоко подвергается сильному загрязнению.

Подойники должны стерилизоваться паром или горячей водой. Имеют значение и форма сосуда, глубина пьвов, размер ее отверстия и даже материал (см. выше—эмалированный и деревянный подойники).

Далее молоко загрязняется воздухом помещения, где производится доение, руками доильщика и кожей животного. Бакхаус и Кронхейм находили в молоке сильно запущенной в отношении чистки коровы 170 000—19 000 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>. После основательной чистки животного количество бактерий в 1 см<sup>3</sup> упало до 20 100. По

Королеву молоко необмытых коров содержало 7 058 бактерий, а обмытых—716. Таких справок можно привести много, но ограничимся этими.

Чистота воздуха имеет громадное значение.

Содержание бактерий по Бурри	
В воздухе (осаждение на 78 см <sup>2</sup> в течение 1 минуты)	В молоке
200—400	20 000
24—34	7 160

Стокинг сообщает следующие цифры количества бактерий в 1 см<sup>3</sup>:

До дачи корма . . . . .	2 096
После дачи корма . . . . .	3 506
С одновременной чисткой коров . . . . .	2 286
В другое время . . . . .	1 207
До дачи сена . . . . .	2 426
После дачи сена . . . . .	9 165

Из этой таблицы мы видим, что увеличение числа бактерий в воздухе неминуемо влечет за собой увеличение их числа в молоке. Сырая погода влияет на увеличение бактерий в молоке. Имеет значение для количественной и качественной стороны бактериальной флоры молока и род корма: при влажном корме загрязнение больше.

Руки доильщика при неопрятном и неумелом доении также могут служить источником загрязнения.

Употребление доильных машин вследствие крайней трудности их очистки также ведет к загрязнению молока, увеличивая количество бактерий в 5—15 раз (Стокинг и Мэсон, Гаррисон).

Большое значение для загрязнения молока имеют мухи: по Груберу одна муха может внести до 1 900 000 микробов.

Все приведенное указывает на загрязнение молока в самом молочном хозяйстве из самых разнообразных источников, что ведет к разнообразию флоры молока. На самом деле в молоке мы можем встретить всех микробов, которые находятся в воздухе, почве, навозе, воде и т. д. Кроме сапрофитов молоко может загрязниться патогенными бактериями как от больных и носителей среди персонала молочных хозяйств (чаще всего тиф и паратиф), так и от больных животных (туберкулез, ящур).

Для предупреждения подобных загрязнений молочные хозяйства должны быть организованы вполне отвечающими санитарным требованиям. В United States Public Health Standard Milk Ordinance (1926) мы находим следующие требования к молочным хозяйствам (закон этот является наиболее полным и разработанным в мире). Коровы подвергаются ветеринарному осмотру и туберкулинизации не реже одного раза в год. Вымя и соски должны быть перед доением чисто вымыты (в Швейцарии, Голландии и отчасти в Германии принято не обмывать, а обтирать жиром вымя и соски и руки доильщика, что значительно уменьшает загрязнение молока, ибо жир фиксирует бактерий и не допускает попадания их в молоко), руки доильщика дезинфицируются и вытираются досуха. Доильщики снабжаются специальными костюмами, содержащими в чистоте. Весь персонал

хозяйств не реже одного раза в год подвергается медицинскому освидетельствованию. О каждом заболевании среди людей и животных извещается санитарный надзор. Хлевы должны иметь не меньше 14 м<sup>3</sup> воздуха и 0,28 м<sup>2</sup> поверхности окна на одно стойло. В них устраиваются вентиляции, непромокаемые полы и стоки, стены и потолки красятся. Все должно легко подвергаться очистке и мытью. Дворы должны иметь стоки. Молочная не должна использоваться ни для каких других целей кроме обработки и хранения молока. Должна вестись решительная борьба с мухами.

Кроме того для правильного ведения молочных хозяйств необходимо обращать внимание на чистоту помещения, его воздуха и пр. Подойники лучше всего делать из белого железа двойной или тройной полуды (Макринов) и обрабатывать паром или горячей водой. Отверстие не должно быть большим (по Park 15 см).

До сих пор мы приводили факторы, увеличивающие число бактерий в молоке. Но кроме них мы знаем еще фактор, влияющий в обратном отношении—это бактерицидность свежего молока. Ряд авторов наблюдал при стоянии свежеподоенного молока на холодильнике уменьшение числа бактерий. Бакхаус и Кронхейм нашли:

Непосредственно после доения бактерий . . . .	4 400	19 000	20 400	97 000
Через 3 часа . . . . .	2 000	8 400	16 000	86 000

Henninger нашел, что свежее сырое молоко обладает бактерицидной силой по отношению к *B. typhi mur.*, *V. Metschnikow*, *B. pneumoniae Friedländer*, *Micrococcus pyogenes*. 300 микробов на 1 см<sup>3</sup> исчезали совершенно и лишь через 46 часов начиналось размножение уцелевших зародышей.

Отсутствие или резкое уменьшение бактерицидности после нагревания молока говорит за наличие специфических-бактерицидных свойств молока (типа алексина и леукина—Henninger) и против признания причиной уменьшения числа бактерий влияния низкой температуры хранения, как это полагают некоторые авторы.

Таким образом мы видим, что получение стерильного молока практически в коммерческих условиях невозможно и принятие всех предосторожностей может конечно лишь уменьшить количество бактерий, но не свести их к нулю.

Каким же может быть молоко в отношении бактериальной флоры, если соблюдаются все условия, требуемые гигиеной? По данным американского комитета по бактериологическому исследованию молока (1916 г.) количество микробов тотчас после доения при соблюдении чистоты и пр. в среднем не должно превышать 10 000 микробов на 1 см<sup>3</sup> и может быть даже доведено до 5 000. Возможность таких цифр на практике доказывается наблюдением Кардашева, нашедшего в молоке подмосковных ферм 2 400, 2 200, 7 400 бактерий в 1 см<sup>3</sup>, Винарова в Мариуполе—10 460 микробов в 1 см<sup>3</sup> и т. д. Но путь молока еще длинен. Оно загрязняется далее при переливании в общий чан. Затем молоко хранится до отправки, транспортируется, иногда вновь переливается в новую посуду уже в молочных. И при этом опять-таки получает новую порцию загрязнения. Но главное—увеличение числа бактерий от размножения, степень которого зависит от двух факторов—срока и температуры хранения.

Огг составил на основании ряда определений следующую таблицу, характеризующую в процентах участие различных факторов в загрязнении молока:

Инфекция в хлебе . . . . .	18,5
» при транспорте . . . . .	21,1
» у потребителя . . . . .	19,0
Прибыль от размножения микробов . . . . .	41,4

Основное правило предупреждения бактериального загрязнения от размножения—это немедленно после доения охлаждать молоко, хранить и транспортировать при низких температурах.

Для характеристики, насколько сильно могут размножаться бактерии при хранении молока, приведены следующие таблицы, составленные Park.

Молоко, содержащее после доения 30 000 бактерий в 1 см<sup>3</sup>, содержало:

Температура хранения (в градусах)	Продолжительность хранения (в часах)			
	24	48	96	168
0	30 000	27 000	24 000	19 000
3,9	38 000	56 000	4 300 000	38 000 000
5,6	43 000	210 000	5 760 000	120 000 000
7,8	42 000	360 000	12 200 000	500 000 000
10,0	89 000	1 940 000	5 000 000 000	
12,8	187 000	38 000 000		
15,6	900 000	168 000 000		
20,0	4 000 000	10 000 000 000		

Таким образом мы видим, что хранение молока при обычной комнатной температуре, в особенности летней, может повести к увеличению числа бактерий в 1 см<sup>3</sup> за 24 часа до нескольких миллионов, а за 48 часов—до миллиардов. Поэтому при хранении молока обязательно охлаждение его. Чем меньше температура, тем лучше будет сохраняться молоко, а при 0° оно может сохраняться очень долгое время (неделя и больше). Но практически достижение этой температуры для хранения молока в условиях коммерческого молочного хозяйства невозможно, не говоря уже о невозможности иметь такую температуру при транспорте.

Обычная температура 10°. Достижение этой температуры сравнительно легко на практике, и такая температура позволяет сохранять молоко без особенного загрязнения от размножения в течение 24 часов, т. е. срока, достаточного для передачи его в руки потребителя. Но и против такой температуры делаются возражения, а именно: при этой температуре получают возможность размножения пептонизирующие и гнилостные микробы, в то время как полезные, молочнокислые, не размножаются (Кениг, Люксвольд и др.),—поэтому имеются указания на температуру в 13° как наилучшую для хранения молока, так как при этой температуре получают возможность размножаться и молочнокислые микробы. Размножение последних является благоприятным фактором, так как они действуют благо-

даря выделяемой ими кислоте и какому-то специфическому веществу бактерицидно на ряд других микробов, могущих вызвать порчу молока (Белонковский, Бартель, Калинин и Меерович). С другой стороны, хранение при такой температуре (13°) ведет к быстрому скисанию молока; последнее, правда, не портится, а может быть утилизировано в виде разных молочных продуктов, но это уже не будет молоко как таковое. Поэтому вопрос о наилучшей температуре хранения молока не может считаться разрешенным.

Таким образом санитарные требования при хранении и транспортировке молока должны сводиться к требованию немедленного охлаждения после удоя, хранения при низкой температуре (по американскому закону молоко в зависимости от сорта должно охлаждаться до 10—15,6° и при этой температуре храниться). Далее посуда, употребляемая для сбора и разлива молока, должна основательно мыться и по возможности стерилизоваться.

Если соблюдаются все гигиенические условия содержания коров, доения, хранения молока и пр., то по данным американского комитета по исследованию молока (1916) через 24 часа после доения молоко должно содержать не более 100 000 микробов в 1 см<sup>3</sup> зимой и 200 000 летом.

В действительности эти цифры числа бактерий имеют место в тех странах, где проводится тщательный санитарный надзор с бактериологическим контролем.

В ряде американских городов значительная часть молока содержит не более 50 000 бактерий в 1 см<sup>3</sup>, во Франции—не более 10 000, в Англии—не более 30 000, в Нидерландах в 1922 г. 79% всего молока содержало не более 10 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>. В странах, не имеющих закона о бактериологических нормах молока, содержание бактерий в рыночном молоке очень большое и достигает цифр, имевших место в прежнее время в городах стран, где сейчас благодаря действию соответствующих законов мы имеем минимальное количество микробов.

## БАКТЕРИЙНАЯ ФЛОРА МОЛОКА В КАЧЕСТВЕННОМ ОТНОШЕНИИ

Ход изменений бактериальной флоры по Кёнигу можно разбить на 8 фаз:

1. Бактерицидная—около 8 часов; наблюдается уменьшение числа бактерий.

2. Развитие и действие на белок молока пептонизирующих бактерий.

3. Развитие молочнокислых микробов, сопровождающееся резким образованием кислоты.

4. Развитие *B. faecalis alcaligenes*, выделяющего щелочь; благодаря получающемуся при этом уменьшению кислотности молока оживают пептонизирующие бактерии.

5. Развитие *B. acidilactici* Kozai. Дальнейшее нарастание кислотности.

6. Появление некоторых плесеней, создающих благодаря росту на поверхности анаэробные условия в глубине.

7. Развитие анаэробных возбудителей маслянокислого брожения.

8. Развитие гнилостных, разлагающих белки бактерий.

По Park при нарастании числа бактерий до 10 000 000 в 1 см<sup>3</sup> преобладают молочнокислые микробы, так как только они выдерживают образовавшуюся концентрацию кислоты. При числе бактерий в 1 000 000 000 молоко обычно свертывается.

Все бактерии, находимые в молоке, можно разбить на ряд групп.

### Сапрофиты

Видов сапрофитов, встречаемых в молоке, очень много; в нем могут содержаться все бактерии, имеющиеся обычно в воде, почве, пыли, навозе и пр.

Попытки связать детские заболевания, наблюдающиеся иногда при употреблении молока, с определенными видами сапрофитов оказались неудачными (Park). Данные того же автора показали, что 40% из 235 штаммов, выделенных из молока, при инъекции 2 см<sup>3</sup> их культур на бульоне или молоке вызывали смерть морских свинок. Кормление же теми же культурами котят и молодых морских свинок дало заболевание со смертельным исходом лишь в одном случае. Поэтому определение видов сапрофитов в санитарном отношении бесполезно. Но следует указать, что благодаря накоплению большого количества продуктов обмена веществ суммы всех видов бактерий молоко, содержащее более 1 000 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>, может вызвать у детей грудного возраста диарею (Park). Этим объясняется обилие диареи у детей летом, когда вследствие высокой температуры размножение идет очень энергично и число бактерий иногда превосходит вышеуказанную норму.

Вещества, вызывающие заболевания, принадлежат к термостабильным, следовательно пастеризация не устранит вредности такого молока. На этом основывается требование, чтобы молоко, идущее на пастеризацию, не содержало больше определенной нормы микробов. На детей в возрасте трех лет и выше и на взрослых большое содержание микробов само по себе не оказывает влияния (опыты Park). Но большое содержание бактерий в молоке может указывать на негигиенические условия его получения и хранения, что при появлении где-либо источника патогенных микробов может повести к заражению молока уже этими опасными в санитарном отношении микробами.

Из отдельных родов бактерий, находимых в молоке, представляют интерес следующие.

### Стрептококки

В молоке встречается много видов стрептококков, из которых некоторые принадлежат к молочнокислым. Опасным можно признать присутствие стрептококков при одновременном наличии большого количества лейкоцитов, так как это свидетельствует о воспалительном процессе в вымени, вызванном с большой долей вероятности патогенным стрептококком.

Далее идет большая группа микробов, не имеющих патогенного значения, но могущих вызвать порчу молока,—это так называемые бактерии пороков молока.

## Бактерии пороков молока

Развитие микробов, могущих при своем размножении изменить цвет, вкус, запах, консистенцию и пр. молока, дает образование порочного молока. Появление в молоке таких микробов главным образом обуславливается несоблюдением гигиенических условий добы- вания и хранения молока.

**Таблица пороков молока**

Порок	Микроб, вызвавший изменение молока	А в т о р
Рыбый вкус	<i>B. ichthyosmus</i> Zuna, <i>Proteus</i>	Гаммер, Ленис
Мыльное молоко	<i>B. lactis saponacci</i> (колонии в виде шарообразных скоплений слизи)	Вайгман
	<i>B. Sapolacticum</i> (флюоресцирует, выделяет щелочь, не разжижает желатины)	Эйхольц
Горечь	<i>Tyrothrix geniculatum</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>B. butyricus</i> <i>B. liodermos</i> <i>B. mesentericus</i> <i>B. lactis albus</i> Группа <i>B. coli</i> Микрококки Дрожжи <i>Torula amara</i> Тип <i>B. abortus</i>	Дюкло Лейбчер Гюппе Лефлер
Бродящее молоко	<i>B. mesentericus</i> <i>B. lactis albus</i> Группа <i>B. coli</i> Микрококки Дрожжи <i>Torula amara</i> Тип <i>B. abortus</i> Группа <i>aerogenes</i> <i>Clostridium polymyxa</i>	Рейгман Фрейденрайх Коллаган Гаррисон Эванс
Несвертывающееся мо- локо (незакипающее и не сбивающееся в масло)	Преобладание пептонизирующих микробов	
Сырное молоко	Преобладание бактерий, вырабатывающих сычужный фермент	
Гниlostное молоко	<i>B. coli</i> <i>B. aerogenes</i> <i>B. foetidus lactis</i>	
Слизистое молоко	а) Ряд молочнокислых микробов: <i>Str. hollandicus</i> <i>B. bulgaricus</i> (слизистая раса) <i>Micrococcus viscosus</i> <i>Microc. mucilaginosus</i> ( <i>B. Güntneri</i> ) <i>B. lactis pituitosi</i> б) Микробы, образующие слизь при ней- тральной или слабокислой реакции: <i>B. lactis viscosus</i> <i>Carphococcus pituitoparus</i> <i>Micr. lactis viscosi</i> <i>Actinobacter du lait visqueux</i> <i>Actinobacter polymorphus</i> <i>B. Mesentericus</i> <i>V. cyanogenes</i> <i>B. syncyaneus</i> <i>B. cyanogenes</i>	Бурри Лефлер  Адамен Гиллеб Грубер Дюкло
Синее молоко	(посинение идет с поверхности <i>B. cyaneofluorescens</i> (синие пятна на поверхности с одновре- менной флюоресценцией)	Фукс » Гюппе Затмейстер



Фиолетовое молоко	<i>B. caeruleum</i>	Voges
	(окрашивает только сливки)	
	<i>B. indigonaceum</i>	Classen
	(все молоко сине-зеленое)	
	<i>B. violaceum</i>	Schröter
	<i>B. prodigiosus</i>	
	(красные точки в сливках)	
	<i>B. lactis erythrogenes</i>	Гротенфельд
	(окрашивает все молоко)	
	<i>Sarcina rosea</i>	Meure
Желтое молоко	(главным образом окрашивает сливки)	
	<i>Micrococcus cerasinus</i>	Кеферстен
	(главным образом окрашивает сливки в вишневый цвет)	
	<i>B. rubefaciens pyogenes</i>	Матцушита
	(розовый цвет)	
	<i>B. rubescens</i>	Жордан
	(мясокрасный цвет—поверхность)	
	<i>Micr. rubidus lactis</i>	Конн
	(с одновременным ослизнением молока)	
	<i>Sarcina erythromyxa</i>	Овербен
Соленое молоко при заболевании вымени Карболовый порок стерилизованного молока	(поверхность)	
	<i>Micrococcus roseus</i>	Лейхман и Нейман
		Фукс
	<i>B. synxanthum</i>	
	(окрашивание сперва в голубой и лишь потом в желтый)	
	<i>Sarcina lutea</i>	
	» <i>flava</i>	
	<i>B. fulvum</i>	
	<i>B. ochroleucus</i>	
	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>B. coli</i> , <i>B. lactis aerogenes</i> Спороносная палочка	Hiscox

### Молочнокислые микробы

Группе молочнокислых микробов принадлежит большая роль в молочном хозяйстве. Почти все молочные продукты мы получаем с помощью молочнокислых микробов. Представители этой группы являются полезными для человека микробами. Они же, как выше было указано, предупреждают порчу молока другими микробами. Далее *B. bulgaricus* этой группы был предложен Мечниковым для замены «дикой флоры нашего кишечника» на том основании, что указанная бактерия вытесняет из кишечника микробов, образующих индол, скатол и прочие ядовитые продукты, ведущие организм благодаря хроническому отравлению к преждевременному старению. Для такой замены Мечниковым было предложено регулярное употребление простокваши, получающейся от скисания молока под влиянием *B. bulgaricus*. В последнее время установлено, что *B. bulgaricus* среди других молочнокислых микробов является одним из наиболее трудно акклиматизирующихся в кишечнике микробов, и потому взамен *B. bulgaricus* американцы употребляют *B. acidophilus*, который лучше приживается в нашем кишечнике. Среди молочнокислых микробов можно различать по Макринову истинных и ложных молочнокислых микробов. Первые не образуют при своей жизнедеятельности побочных продуктов, могущих изменить вкус и аромат

молочнокислых продуктов, и выделяют большое количество кислоты—от 70 до 100° по Törner (градус по Törner=2,5 градуса по Сокслету), причем нарастание кислоты идет у истинных молочнокислых микробов отлично от такового у ложных.

Кривая накопления кислоты у истинных молочнокислых микробов имеет инкубационный период, затем резкий подъем вверх и далее

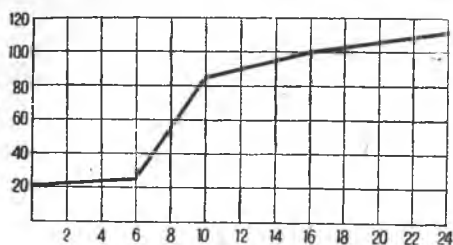


Рис. 16. Кривая нарастания кислотности у *B. acidi Leichman* (по Макринову).

постепенное медленное накопление кислоты без понижений. Например *B. acidi Leichmann* имеет кривую, представленную на рис. 16.

Наоборот, ложные молочнокислые микробы обычно производят целый ряд побочных продуктов, портящих вкус, аромат и консистенцию молочнокислых продуктов, вырабатывают меньшее количество кислоты—до 70° по Törner. Кривую нарастания кислотности у них

см. рис. 17.

Далее молочнокислые истинные микробы не развиваются на простом бульоне или агаре, ложные—обычно растут на них хорошо.

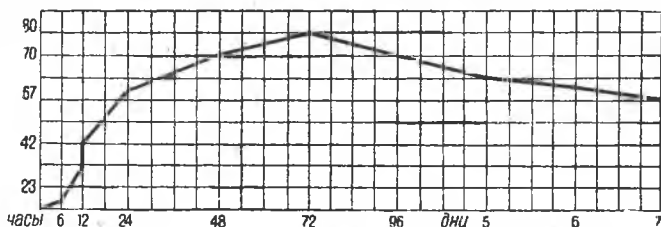


Рис. 17. Кривая нарастания кислотности у *Streptococcus tanaitis* (ложный молочнокислый микроб) (по Макринову).

Представителями группы истинных молочнокислых микробов являются:

*B. lactis acidi Leichmann*  
*B. bulgaricus*  
*B. acidophylus*

*Streptococcus hollandicus*  
*B. caucasicus*

Из них наиболее слабая кислотопродукция наблюдается у *B. Leichmann*, которая в наших краях является обычно причиной скисания молока в простоквашу. Наибольшей кислотопродукцией может обладать *B. bulgaricus*. Конечно нельзя провести строгой границы между той и другой группой, так как всегда найдется достаточное количество промежуточных типов, стирающих грань между группами, но для ориентировки в молочном хозяйстве эта схема Макринова может явиться полезной. Описание главнейших молочнокислых микробов см. в отделе молочнокислых продуктов.

К группе ложных молочнокислых микробов можно отнести:

<i>B. lactis aerogenes</i>	<i>Streptococcus lactis acidii tanaitis</i>
<i>B. acidii lactis</i> Hueppe	<i>B. casei</i>
( <i>B. lactis aerogenes</i> )	<i>B. coli</i> com.
	(Фрейденрайх и др.)

### Анаэробы

В молоке мы можем обнаружить и представителей анаэробов. По Grassberger и Schattenfroh в молоке встречаются подвижные маслянокислые анаэробы:

<i>B. Welchii</i>	<i>B. malig. oedem.</i>
<i>Rauschbrandbacillus</i>	<i>B. putrificus</i> Bienstoc и др.

Часть из них патогенна для человека.

Кроме перечисленных мы можем найти в молоке еще микробов группы *B. subtilis*, пигментообразующих, слизиобразующих, а также дрожжевые грибки.

### Патогенные микробы

Молоко может содержать следующих патогенных микробов, из которых одни могут быть обнаружены в молоке, а о возможности присутствия других мы судим лишь эпидемиологически:

<i>B. typhi</i>	<i>B. anthracis</i>
<i>B. paratyphi</i>	<i>V. cholerae</i> asiat.
<i>B. dysenteriae</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>B. tuberculosis</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>B. diptheriae</i>	Возбудитель ящура
	Возбудители бруцелоза

Из них *B. typhi*, *B. paratyphi* были находимы в молоке сравнительно часто. Загрязненное ими молоко по данным департамента здравоохранения США за 1918—1923 гг. дало 87, а за один 1924 г. 35 эпидемических вспышек.

За тот же срок обнаружена 24 эпидемическая вспышка скарлатины, имевшая причиной зараженное молоко.

Большую санитарную опасность представляет молоко, зараженное *B. tuberculosis*, происходящее от больных туберкулезом коров. В настоящее время можно считать установленным, что мнение Коха о крайней редкости заражения через молоко людей палочкой типа *bovinus* не является верным. Park и Crumwiede собрали материал в 1500 штаммов *B. tuberculosis* от больных туберкулезом людей, из них 137 штаммов были *B. tuberculosis bovinus*. Примерно такое соотношение наблюдалось и другими авторами (Vaughan, Lange и др.).

Далее установлено, что у детей (главных потребителей молока) 87,5% всех случаев туберкулеза шейных желез и брюшных органов обуславливает *B. tuberculosis bovinus* (работы английской туберкулезной комиссии). Таким образом можно считать установленным, что *B. bovinus* патогенен для человека. Малый же процент находок у больных людей можно объяснить тем, что заражение происходит

главным образом через молоко, а таковое в сыром виде употребляет лишь ограниченный контингент лиц. Раз *B. bovinus* патогенен, то молоко больных коров является опасным и не должно употребляться даже в пастеризованном виде, так как, как выше было указано, пастеризация не дает гарантии в убивании *B. tbc*.

*B. tbc* попадает в молоко почти исключительно от больных коров, причем следует отметить, что находки *B. tbc* в продажном рыночном молоке нередки: 10—20% (Cornet, Ostermann, Kleimner, Гинзбург и Рабинович). Точно так же от больных животных попадает в молоко возбудитель ящура, но практически заражение людей от молока коров, больных ящуром, очень редко, видимо в силу малой восприимчивости к нему человека.

*B. anthracis* теоретически может быть передан через молоко больного животного, но в силу прекращения лактации в разгаре болезни и появления его в молоке в крайнем случае лишь в поздней стадии болезни, когда картина болезни ясна и животное изъято, практически такая передача является исключением.

Бруцеллы (*Brucella bovis, suis, ovis*) часто находятся в молоке, и такое молоко является после контакта самым частым источником инфицирования человека бруцеллезом.

Процент находок бруцелл в молоке по данным разных авторов колеблется от 10 до 40 с лишним, в среднем 30.

Что же касается других микробов, то они попадают в молоко при неопытном добывании и хранении от больных—бациллоносителей или бацилловыделителей, служащих или живущих при молочном хозяйстве и торговле.

Отсюда понятна целесообразность требования американского закона (см. выше) об обязательном извещении санитарного надзора о всех случаях заболеваний людей на фермах.

Сохраняемость патогенных бактерий в молоке довольно велика: *B. tbc* может сохраняться до 14—18 дней (Heim, Wedemann); *B. typhi* может сохраняться в стерильном молоке от 7 дней до 3 месяцев (Cantley, Broers, Bolley и Hold). Бруцеллы сохраняются до 60 дней.

В сыром молоке благодаря накоплению кислоты и конкуренции микробов продолжительность жизни *B. typhi* меньше, но все же в течение срока, который обычно проходит от момента загрязнения до попадания молока в руки потребителя (24—48 часов), он вполне может сохранить свою жизнеспособность. *V. cholerae asiaticae* по опытам Спектор также может жить в сыром молоке до 2 дней при температуре 16—18° и 6 дней при температуре 5—6°. Такая хорошая сохраняемость делает молоко очень опасным передатчиком патогенных микроорганизмов.

## ЗАДАЧИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОКА

Как видно из предыдущего, мы при бактериологическом исследовании молока можем поставить себе следующие главные задачи:

1. Нахождение патогенных микроорганизмов.
2. Определение общего числа микроорганизмов для суждения:  
а) о степени его опасности для детей грудного возраста в зависимости

от большего или меньшего содержания в нем сапрофитов, б) о надлежащих условиях получения и хранения молока.

3. Определение фекального загрязнения молока для суждения опять-таки о том, насколько соблюдены гигиенические условия его получения.

Определение патогенных микробов в молоке производится по обычным правилам. Анализы эти производятся лишь при специальных показаниях, так как исследования эти сложны и требуют настолько много времени для выполнения, что к моменту окончания анализа молоко может испортиться; кроме того у нас нет уверенности вследствие несовершенства современной методики в достоверности отрицательных результатов; поэтому при обычном анализе молока мы определяем лишь общее количество микробов и фекальное загрязнение молока. По этим показателям судим об условиях получения и хранения молока, а следовательно о большей или меньшей опасности молока в смысле передачи через него патогенных микробов. Если кроме такого бактериологического контроля организованы регулярные ветеринарные и медицинские осмотры и туберкулинизация, то молоко можно считать почти полностью гарантированным. За это говорит исчезновение молочных эпидемий тифа, паратифа и пр. в странах и городах, где проведены соответствующие законы. Наконец дополнением к бактериологическому анализу является микроскопическое исследование для обнаружения лейкоцитов, стрептококков, *V. tbc* и разных случайных примесей.

## МЕТОДИКА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОКА

### Взятие проб

Верхний слой сливок и нижний слой отстоявшегося молока могут резко отличаться друг от друга по содержанию бактерий. Поэтому при взятии проб молока последнее должно быть тщательно перемешано. Особенно тщательно нужно производить перемешивание, когда молоко по каким-либо причинам разделяется на слои (мороженое молоко, частично или полностью свернувшееся молоко и пр.). Перемешанное молоко переливается в стерильные склянки емкостью в 600 см<sup>3</sup> с притертой пробкой. Такого количества хватит на бактериологическое и химическое исследования. Вместо склянок с притертой пробкой можно употреблять обычные бутылки с хорошо прокипяченными резиновыми или корковыми пробками. В случае отсутствия стерильной посуды можно пробу взять в свежепрокипяченную бутылку.

Летом бутылки наливают молоком почти доверху, а зимой лишь на две трети—во избежание разрыва бутылки от случайного заморозания. При взятии проб бутылки обязательно снабжаются этикетками с обозначением места, даты и часа выемки пробы, места, даты и времени доения, клички коровы и других сведений, касающихся данного молока.

Единственным допустимым консервирующим средством для молока, предназначенного к бактериологическому исследованию, является хранение при низкой температуре.

Если время, протекающее от момента взятия пробы до прибытия пробы в лабораторию, велико, более  $\frac{1}{2}$ —1 часа, а имеется надобность установить качество молока в бактериологическом отношении точно в момент взятия пробы, то рекомендуется производить доставку проб молока во льду (ведро или большая жестяная банка со льдом). Доставленные в лабораторию пробы до момента посева хранятся в леднике. В первую очередь производится бактериологическое исследование, после чего приступают к химическому. Непосредственно перед каждым взятием порции молока для того или иного посева пробы должны быть тщательно взболтаны.

### Исследование молока на патогенных бактерий

Несмотря на то что молоко является хорошей питательной средой почти для всех микробов, нахождение патогенных микроорганизмов представляет известные трудности ввиду большого количества сапрофитов в молоке, из смеси с которыми единичные патогенные микроорганизмы выделить бывает трудно.

Кроме того здесь может иметь место явление, описанное в главе о воде, т. е. такое изменение физиологии микроба благодаря жизни в кислой среде и в симбиозе с тысячами разнообразных микроорганизмов, что идентификация будет подчас невозможной.

Такая гипотеза представляется чрезвычайно вероятной, так как, хотя мы и знаем с достоверностью, что например значительная часть эпидемий брюшного тифа возникает благодаря зараженному молоку, в литературе имеются лишь единичные описания положительных находок *B. typhi* в молоке. Конечно возможно, что известную роль играет здесь и непригодность употребляемых нами методов выделения *B. typhi* из молока. Такое же положение мы имеем и с другими патогенными микробами.

При исследовании необходимо брать не менее 100 см<sup>3</sup> молока, разлить в центрифужные пробирки, центрифугировать 15—20 минут при 2 000 оборотах центрифуги и исследовать путем микроскопирования (*B. tbc*, *streptococcus*) и посева на соответствующие питательные среды осадка и верхнего слоя сливок. Последнее необходимо, так как микробы не только осаждаются на дно центрифужной пробирки, но могут быть увлечены в большом количестве поднимающимися жировыми капельками в верхние слои.

### *B. typhus* и *B. paratyphus*

Обнаружение *B. typhi* в молоке удавалось лишь в редких случаях (Vaughan, Conradi, Raynolds, Линникова).

Для обнаружения необходимо брать пробы с возможно меньшим сроком хранения (меньшая кислотность). Исследование производится обычными способами: посевом осадка и сливок на возможно большее количество чашек со средой Эндо или Дригальского; параллельно сеют в накопительные среды (желчь, среду с бриллиантгрюн и пр.). Stockvis рекомендует пользоваться способом Ficker и Hoffmann (бульон с кофеином), употребляемым для исследования воды.

При исследовании на *B. paratyphi* хорошим накопительным способом является посев на среду Teitz и Lentz (Gaeltgens).

При применении накопительных сред последние засеваются возможно большим количеством исследуемого материала. Чашки, засеянные непосредственно материалом или из накопительных культур, исследуются на присутствие подозрительных колоний, из которых делаются высевы чистых культур для идентификации.

Следует обратить внимание и подробно изучать в случае отсутствия типичных *B. typhi* и *B. paratyphi* все культуры, которые, не будучи типичными, все же по своим биохимическим и прочим свойствам являются близко стоящими к этим микробам (см. главу о воде).

### *B. dysenteriae*

Попытки обнаружения производятся по способам, указанным для *B. typhi*, но без посевов в накопительные среды. Случаев положительных находок, стоящих вне сомнений, в литературе до сих пор неизвестно (Sommerfeld).

### *V. cholerae asiaticae*

До сих пор в литературе нет описаний случаев бесспорных положительных находок *V. cholerae asiaticae* в молоке. Обнаружение производится обогащением на пептонной воде. При посеве следует брать возможно большее количество пептонной воды и засеять отдельно осадок центрифугированного молока и сливки. Например минимум на 1 л пептонной воды, разлитой в колбы по 100 см<sup>3</sup>, засеять осадок и сливки, полученные центрифугированием 100 см<sup>3</sup> молока. При исследовании молока на холерные вибрионы неблагоприятным фактором является слой сливок, скопляющийся на поверхности питательной среды, что совместно с поглощением кислорода сопутствующими бактериями в глубине среды может повести к получению анаэробных условий, вовсе не подходящих для холерного вибриона, являющегося жадным аэробом. Поэтому-то необходим посев осадка отдельно, так как при этом, соблюдая ряд предосторожностей против попадания жира, мы можем иметь посев без жира на поверхности питательной среды. Посев сливок хорошо время от времени встряхивать для насыщения кислородом. С пептонной воды производится высев на возможно большее количество чашек (например 10) со средой Dieudonné, Pilon-агаром, щелочным агаром и т. д. по обычным правилам.

### *B. diptheriae*

Положительные находки *B. diptheriae*, правда единичные, описаны в английской литературе. Для обнаружения осадок и сливки засеваются на большое количество чашек со свернутой сывороткой Löffler. Через 8—12 часов производится отыскивание подозрительных колоний, микроскопическое их исследование и в случае надобности отбивка чистых культур для определения вирулентности и отношения к углеводам для дифференцировки от псевдодифтерийных палочек и невирулентных рас *B. diptheriae*. Кроме непосредственного посева на сыворотку рекомендуется произвести заражение морской свинки путем подкожной или внутривенной инъекции; в качестве

контроля служит свинка, получившая за 6 часов до опыта вырыскивание 500 единиц антитоксина. На месте инъекции в положительных случаях при внутрикожном заражении наблюдается некроз, при подкожном—отек. При секции погибшего животного находят экссудат в брюшной и грудной полостях, увеличение и геморагию надпочечников.

### *B. anthracis*

По Boser и Weleminsky палочки сибирской язвы могут появиться при наличии геморагий в вымени. Обнаружение палочек сибирской язвы производится путем посева осадка и сливок на чашки с обыкновенным агаром и заражения мышей обычными способами.

### *Staphylococcus*

По данным Barfer, Tanner и Ramsey в молоке может находиться *Staphylococcus*, вызывающий вспышки пищевых токсико-инфекций.

### *Streptococcus*

Как показали американские обследования, гемолитический стрептококк, находящийся в молоке, может служить причиной ангины и скарлатины (?). Обнаружение его производится посевом осадка и сливок на ряд чашек с кровяным агаром. Кроме гемолитичности за патогенные свойства обнаруживаемого стрептококка говорит одновременное присутствие большого количества лейкоцитов (см. лейкоцитарную пробу). Для признания за выделенным стрептококком скарлатинозного происхождения необходимо его испытать на способность продуцировать специфический (?) токсин Dick.

### *B. tuberculosis*

Обнаружение *B. tuberculosis* в рыночном молоке как за границей, так и у нас удается сравнительно легко и наблюдается в 10—20% образцов. *B. tuberculosis* попадает в молоко почти исключительно от больных животных и в особенно большом количестве при заболеваниях туберкулезом вымени.

Для обнаружения *B. tuberculosis* в молоке микроскопическим методом можно пользоваться лишь в редких случаях, когда молоко сильно заражено туберкулезными палочками, например при туберкулезе вымени. В этом случае при исследовании мазков обнаруживается очень большое количество туберкулезных палочек, из которых часть лежит внутри лейкоцитов. Но даже в этих случаях микроскопический диагноз не будет абсолютно точным, так как микроскопически отличить туберкулезную палочку от других кислотоупорных невозможно. Предложенные для этой цели разные способы окраски, основанные на различной степени кислотоупорности тех и других, в настоящее время, когда мы знаем о существовании даже вовсе не-кислотоупорных форм *B. tuberculosis* и следовательно переходных форм всех оттенков кислотоупорности, не выдерживают критики.



При большом количестве кислотоупорных микробов мы склоняемся к признанию их туберкулезными, так как кислотоупорные сапрофиты в молоке обычно не встречаются массами. Приготовление мазков из отцентрифугированного, ничем не обработанного молока не рекомендуется, так как мазки из слоя сливок (которые, как указано выше, должны наравне с осадком обязательно подвергнуться исследованию) плохо фиксируются и окрашиваются. Agnelli рекомендует для приготовления микроскопических препаратов следующий способ: 25 см<sup>3</sup> молока смешивается с 2 см<sup>3</sup> амиака, 50 см<sup>3</sup> эфира и 50 см<sup>3</sup> петролейного эфира; смесь повторно и основательно взбалтывается и оставляется в покое до отделения прозрачного слоя эфира с жиром; нижний слой отсасывается в отдельную пробирку, центрифугируется и из осадка готовятся мазки, которые окрашиваются обычным способом. Uhlenhuth смешивает 5 см<sup>3</sup> молока, 5 см<sup>3</sup> эфира, 5 см<sup>3</sup> алкоголя и 10 см<sup>3</sup> 25% антиформина; к смеси добавляется еще 25 см<sup>3</sup> физиологического раствора, все смешивается и центрифугируется в течение 30 минут. Осадок красится обычно. При окраске мазков кроме применяемого обычного способа окраски по Ziehl-Neelsen—Ehrlich можно рекомендовать способ Jotten-Haarmann.

Довольно толстые мазки красят следующим образом:

1. Карболовый фуксин Ziehl с подогреванием до появления пузырьков—2 минуты.

2. 10% азотная кислота—15 секунд.

3. Промыть водой.

4. 10% азотная кислота—15 секунд (в случае надобности время обесцвечивания увеличивается).

5. Промыть водой.

6. Обработать смесью равных частей насыщенного водного раствора пикриновой кислоты и спирта—30 секунд.

7. Промыть водой, подсушить.

Туберкулезные палочки при таком способе окраски—красные, а фон—гомогенный светлый, слабозеленый, что облегчает отыскивание туберкулезных палочек в сравнительно толстых мазках.

Попытки получения культур *B. tbc* из молока до сих пор не удавались.

Наиболее верным и правильным способом является заражение животных, а именно морских свинок, которые благодаря своей большой чувствительности даже к небольшому количеству *B. tbc* и редкости среди них спонтанного туберкулеза являются наиболее подходящими для этой цели.

Для заражения свинок молоко центрифугируется 15—20 минут при 2 000 оборотах центрифуги, сливки и осадок смешиваются и растираются в ступке с небольшим количеством физиологического раствора и выпрыскиваются в количестве 2—3 см<sup>3</sup> свинке (инъцировать сливки и осадок отдельно двум свинкам). Выпрыскивание производить или подкожно—у паха или внутримышечно—в мышцы бедра. Интраперитонеальная инъекция не рекомендуется, так как легко потерять животное от сопутствующей инфекции стрептококком и пр. Рекомендуется заражать одновременно 2—4 свинки. В случае заражения под кожу паха или в мышцы бедра примерно через 7—10 дней паховые железы набухают, затем свинка начинает терять в весе. Через

12 недель, если не погибнет ранее, свинка убивается и исследуется на наличие характерной для туберкулеза патологоанатомической картины и туберкулезных палочек (некоторые авторы убивают свинку значительно раньше, через 6 недель).

Для получения культур, что бывает необходимо для установления принадлежности выделенного штамма к типу *humanus* или *bovinus*, из туберкулезных очагов делают высевы на яичную среду по способу Löwenstein, Semioschi в видоизменении Hohn.

Практически же в такой дифференцировке надобности не представляется, ибо в настоящее время вопреки взглядам школы Коха установлено, что тип *bovinus* может вызвать и вызывает достаточно часто заболевания туберкулезом людей, поэтому молоко, зараженное *B. tbc*, является опасным и неподлежащим употреблению в сыром виде, каким бы типом *B. tbc* оно ни было заражено.

Sommerfeld рекомендует во избежание смешанной инфекции обработать смесь осадка и сливок 10—15% антиформинном. Но некоторые штаммы *B. tbc* мало устойчивы к антиформину, поэтому этот способ можно рекомендовать лишь наряду с заражением необработанным материалом. Для ускорения результатов зараженным свинкам при появлении признаков заболевания можно, не дожидаясь их гибели, проделать туберкулиновую пробу. По Jonob и Meyer инъекция 0,5 старого туберкулина больным туберкулезом свинкам ведет к их гибели, в то время как свинки, свободные от туберкулеза, легко переносят такую дозу (технику см. Esch. M. M. W., 1912, № 39).

Для дифференцировки типа *bovinus* от *humanus* служат следующие признаки:

	Humanus	Bovinus
Морфология	Относительно длинные и тонкие	Относительно короткие и толстые
Рост на яичной среде	Сухой, бугристый, в конденсационной воде пленка восплазает на стекло	Влажный, coli-подобный рост без пленки в конденсационной воде
Глицериновый бульон	Грубоузловатая толстая пленка	Нежная с бородавчатыми утолщениями пленка
Заражение кролика: 0,01—подкожно, 0,00001—внутривенно	Нет генерализации	Генерализированный туберкулез
Заражение быка—0,05	Местный туберкулез	Общий туберкулез

Вышеприведенное показывает, что у нас нет метода, дающего возможность быстро поставить диагноз присутствия в молоке *B. tbc*. И положительные и отрицательные результаты микроскопического исследования недостаточны, а опыт на животном требует в лучшем случае 2—3 недель времени. Поэтому главное внимание должно быть обращено на регулярные ветеринарные осмотры и туберкулинизацию всех молочных коров.

**Микрорганизмы бруцелоза** (*Micrococcus melitensis* B. Bang)

Отцентрифугировать и посеять осадок на бульон и чашки с глицериновым агаром. Пересев с бульона на чашки с глицериновым агаром.

Найти подозрительные колонии на чашках, отвить чистые культуры и исследовать реакцией агглютинации (1 : 200—1 : 6 400). Пробирки должны стоять 6 часов при 37° и 18 часов—при комнатной температуре. Отрицательный результат недоказателен, так как встречаются неагглютинирующиеся расы. Houdleson в 1913 г. предложил делать посевы на печеночный агар pH 6,6 содержащий генциан-виолет 1 : 200 000 и *suprum sulfuricum* 1 : 2 000. На этом агаре подавляется рост стрептококков, мешающих росту бруцелл. Для В. Bang рекомендуется выращивание в атмосфере, содержащей 5—10% CO<sub>2</sub>.

Можно еще по Zammif проделать реакцию агглютинации молока (разведения 1 : 20 и 1 : 40) с заведомой культурой микрококка мальтийской лихорадки.

Взвесь микробов *Brucella* густой в 1—2 миллиарда смешивают с разведенным молоком. Полученную смесь насасывают в капиллярные трубки, последние запаиваются. Через сутки в случае положительного результата средний слой должен представлять собою прозрачную жидкость. Pisani предлагает делать агглютинацию с молочной сывороткой.

Молоко свертывается добавлением к 20 см<sup>3</sup> 3 см<sup>3</sup> 1% раствора сычужного фермента. Полученная сыворотка фильтруется через асбестовый фильтр до прозрачности и употребляется для реакции агглютинации.

Следует иметь в виду трудность выращивания и большой срок роста (несколько дней). Надежнее исследуемым материалом заражать морских свинок.

### Общее бактериологическое исследование

Обычное бактериологическое исследование молока преследует две цели: 1) определение общего числа бактерий в молоке, 2) степень фекального его загрязнения.

### И с с л е д о в а н и е   м о л о к а   н а   к о л и ч е с т в о м и к р о б о в

Для определения количества микробов в молоке имеются два метода. При одном мы микроскопически определяем на мазках все количество мертвых и живых микробных клеток, приходящееся на определенный объем молока (Scarr, Breed, Dreyer, Prescott, Королев). По второму методу определяется лишь количество живых микробов путем подсчета колоний, вырастающих на агаре при определенной температуре за определенный промежуток времени. И тот и другой способы имеют свои преимущества и недостатки. Преимущества метода непосредственного счета бактерий молока на мазках следующие:

1. Быстрое получение результатов.
2. Получается более правильное представление о числе бактерий, так как метод позволяет сосчитать отдельно бактерии, лежащие кучками, что в молоке наблюдается постоянно.

При исследовании посевом на агаре из таких кучек, состоящих иногда из нескольких десятков отдельных бактерий, вырастает лишь одна колония. Кроме того посев на агар в обычных условиях не учитывает анаэробов и ряд аэробов, не растущих на простых питательных средах или при данной температуре.

3. Получается одновременно представление о формах бактерий и выясняется количество лейкоцитов.

4. Если считать каждую кучку микробов за одну бактерию, то результаты определения числа бактерий приближаются к таковым. получающимся при посеве. И это позволяет с известной степенью вероятности сравнивать результаты обоих методов.

5. Большая экономия в питательных средах и посуде.

Но вместе с отмеченными положительными сторонами метод этот имеет ряд недостатков:

1. Учитывает не только жизнеспособность бактерий, но и все мертвые клетки; поэтому он абсолютно неприменим для пастеризованного молока.

2. Небольшое количество материала, берущееся для исследования, может служить источником ошибок.

3. При исследовании хорошего молока приходится считать бактерии в очень большом количестве полей зрения, что требует большой затраты времени на производство каждого такого анализа.

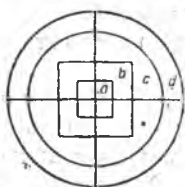


Рис. 18 Окуляр-микрометр Цейса.

4. Результаты значительно более субъективны, чем при методе посева.

Park приводит опыт сравнения количеств бактерий, сосчитанных в мазках одной и той же порции молока тремя различными опытными исследователями: А. сосчитал на единицу объема 164 000 бактерий и 65 000 кучек, В.—29 000 и 8 000, С. 133 000 и 38 000.

Метод посева также имеет свои достоинства и недостатки, которые ясны из приведенных недостатков и достоинств метода мазков.

В общем число бактерий, учитываемых микроскопически, в 4—8 раз больше числа бактерий, определяемых счетом колоний при посеве на агар.

Микроскопический подсчет бактерий в молоке может производиться различными способами.

Способ Prescott и Breed. Исследуемое молоко тщательно встряхивается и 0,01 см<sup>3</sup> наносится при помощи тонкой капиллярной пипетки на предметное стекло и размазывается на пространстве 1 см<sup>2</sup>.

Для размазывания на площади в 1 см<sup>2</sup> под предметное стекло подкладывают бумагу с очерченным на ней квадратом или лучше кружком с поверхностью в 1 см<sup>2</sup>. Таких мазков готовят по два на каждом стекле.

Далее мазок подсушивается в струе теплого воздуха над горелкой, обезжиривается эфиром, ксилолом и пр., фиксируется 5—10 минут спиртом и окрашивается водным раствором метиленовой синьки (синька Löffler не годится). Подсчет производится микроскопированием при помощи иммерсионного объектива. Длина тубуса устанавливается так, чтобы диаметр поля зрения был равен 0,16 мм, тогда площадь каждого поля зрения будет равна приблизительно 0,0002 см<sup>2</sup>. Если при такой установке в каждом поле зрения будет видна одна бактерия, то количество микробов в 1 см<sup>3</sup> молока можно считать равным 500 000.

При большом количестве бактерий следует подсчитывать 10, при среднем—50 и при малом—100 полей зрения. При подсчете каждый член цепочки или кучки считается как отдельный индивидуум. Среднее арифметическое число бактерий, приходящихся на одно поле зрения, умножается на 500 000 и получают число бактерий в 1 см<sup>3</sup>.

Диаметр поля зрения устанавливается при помощи объект-микрометра.

**С п о с о б С с а г г.** К 10 см<sup>3</sup> исследуемого молока прибавляют 3,5 см<sup>3</sup> карболовой и метиленовой синьки (2,0 метиленовой синьки, 10 см<sup>3</sup> алкоголя и 100 см<sup>3</sup> 2% карболовой воды), 1 см<sup>3</sup> 30% раствора едкого натра. Смесь хорошо смешивается встряхиванием и нагревается на водяной бане 5—10 минут при 70°.

Капиллярной пипеткой 0,02 см<sup>3</sup> нагретой смеси наносятся на предметное стекло и размазываются на площади определенной величины (20×24 мм). Препарат подсушивается и рассматривается иммерсионным объективом  $\frac{1}{12}$  при определенной длине тубуса с окуляром № 1 Leitz и окуляр-микрометром Zeiss.

Фиксация, промывка и обезжиривание препарата не производится.

Цейсовский окуляр-микрометр имеет круги 4 квадраты (рис. 18).

При указанной выше оптике квадрат *a* соответствует площади объекта в  $\frac{1}{400}$  мм<sup>2</sup>, одна четверть его— $\frac{1}{1600}$  мм<sup>2</sup>, *b*— $\frac{1}{80}$  мм<sup>2</sup>. Малый круг *c*— $\frac{21}{40}$  мм<sup>2</sup>, большой круг *d*, обнимающий все поле зрения,— $\frac{1}{32}$  мм<sup>2</sup>.

При подсчете выбирают круги и квадраты окуляр-микрометра, в которых имеется приблизительно 10 микробов.

**П р и м е р п о с ч и с л е н и я.** На каждый малый квадрат приходится например 2 микроба. Площадь квадрата— $\frac{1}{400}$  мм<sup>2</sup>, площадь всего мазка— $20 \times 24 = 480$  мм<sup>2</sup>, значит на всем мазке будет микробов:

$$2 \times 480 : \frac{1}{400} = 2 \times 480 \times 400 = 384\,000.$$

А в 1 см<sup>3</sup> молока в 50 раз больше (для приготовления мазка взято  $\frac{1}{50}$  см<sup>3</sup>):  
 $384\,000 \times 50 = 19\,200\,000$  микробов.

**С п о с о б Д р е у е р.** Приготавливают стандартную взвесь из каких-либо крупных клеток. Проф. Королев предложил для этой цели взвесь клеток *Schizosaccharomycetes* (африканские дрожжи) с содержанием 10 миллионов клеток в 1 см<sup>3</sup>, консервированную 5% карболовой кислотой.

Дреуер рекомендует готовить взвесь в 30 000 клеток в 1 см<sup>3</sup> и предварительно обрабатывать сулемой, промывать многократно физиологическим раствором, содержащим небольшое количество формалина.

Для подсчета микроорганизмов смешивают 1 см<sup>3</sup> исследуемого молока с 1 см<sup>3</sup> стандартной взвеси, капля смеси размазывается по предметному стеклу, причем мазок делается большей или меньшей толщины в зависимости от содержания в молоке микроорганизмов. Микробы и клетки стандартной взвеси окрашиваются по способу либо Scarr либо Prescott-Breed. Самый подсчет производится по полям зрения. Сперва сосчитывают в данном поле зрения клетки взвеси и потом клетки микробов. Подсчитываются обычно 10—20 полей зрения.

Количество микробов, приходящееся при соответствующих пересчетах на число клеток в 1 см<sup>3</sup> стандартной взвеси, соответствует содержанию микробов в 1 см<sup>3</sup> молока.

**Пример расчета.** Стандартная взвесь по Королеву—10 000 000 клеток в 1 см<sup>3</sup>—смешана с равным количеством молока. В 10 полях зрения подсчитано 17 клеток взвеси и 171 микробная клетка. На одну клетку взвеси приходится  $\frac{171}{17} = 10$  микробов, а на 10 000 000 клеток взвеси придется 100 000 000 микробов,

каковое количество и содержится в 1 см<sup>3</sup> молока.

**Определение количества микробов в молоке посевом в агар.** Для посева определенное количество молока смешивается в растопленной и охлажденной твердой питательной средой, смесь вливается на чашки Петри, и через определенный срок выращивания при определенной температуре производится подсчет колоний аналогично исследованию воды.

В качестве питательных сред можно употреблять обыкновенный мясо-пептонный агар или мясо-пептонную желатину, но многие молочнокислые и другие микробы, встречающиеся в молоке, не растут на этих средах, поэтому лучше брать сахарный агар или даже среду с еще большей питательностью.

Меуер добавляет в агар кроме глюкозы еще и лактозу. Klimmer и Sommerfeld предложили смесь равных частей молочной сыворотки и 2% водного агара. На такой среде хорошо растут молочнокислые микробы, но несомненно задерживается рост всевозможных постоянных микроорганизмов, что умаляет ценность этой среды.

Ауер с успехом применял казеиновый агар. Для приготовления его: 1) растворяют 10,0 казеина в 300 см<sup>3</sup> кипящей дистиллированной воды, к которой добавлено 7 см<sup>3</sup> нормального раствора едкого натра; по растворении добавляют дистиллированной воды до 500 см<sup>3</sup>; реакция среды должна быть нейтральной; 2) растворяют 10,0 агара-агара в 500 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Оба раствора смешивают, смесь фильтруют, разливают и стерилизуют.

Для определения числа молочнокислых микробов отдельно от прочих Омелянский рекомендует сеять молоко в агар с 1% глюкозы с добавлением стерилизованного мела до ясной мути. Колонии молочнокислых микробов, вырастающих на этой среде, узнаются по прозрачным ареолам, получающимся вокруг них благодаря растворению мела кислотой, выделяемой молочнокислыми микробами. Наиболее простой и дающей хорошие результаты средой следует считать агар с 1% глюкозы, который и рекомендуется употреблять впредь до выработки какой-либо иной стандартной среды.

**Производство посева.** Ввиду возможности больших колебаний в содержании бактерий в молоке—от нескольких тысяч до десятков и сотен миллионов—необходимо сеять три различных разведения молока. Одним и тем же количеством разведения рекомендуется засеивать не одну, а две чашки.

Практически поступают следующим образом: берут три пробирки, содержащих каждая по 10 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора или водопроводной воды, четыре градуированные пипетки с делениями на 0,01, 6 стерильных чашек Петри, 6 пробирок с 10—15 см<sup>3</sup> сахарного агара, растопленного и охлажденного

до 43—44° (ср. исследование воды на счет колоний). После тщательного и сильного встряхивания молока берут пипеткой 0,1 исследуемого молока и вносят в пробирку № 1, пипетку оставляют в бутылочке цельного молока; разведение молока в пробирке № 1 тщательно смешивают и свежей пипеткой переносят 0,1 этого разведения в пробирку № 2 (пипетку оставляют в пробирке № 1), перемешивают и 0,1 разведения в пробирке № 2 переносят третьей пипеткой в пробирку № 3 (пипетку оставляют в пробирке № 2). Содержимое пробирки № 3 смешивается, и в нее вставляется четвертая пипетка. Работа с одной пипеткой для всех разведений даже при тщательном промывании может дать очень неточные результаты из-за прилипания частиц молока и бактерий к стенкам, поэтому употребление отдельной пипетки для каждого разведения обязательно. Таким образом мы получаем: цельное молоко, разведение его 1 : 100, 1 : 10 000 и 1 : 1 000 000.

Для посева вносят по 0,1 см<sup>3</sup> разведенного молока из пробирки № 1 в две пробирки с агаром, вращением между ладонями производят смешивание и выливают содержимое каждой в стерильную чашку Петри. Так же поступают с содержимым пробирки № 2. Содержимое пробирки № 3 сеется так же, но вместо 0,1 см<sup>3</sup> берут 1 см<sup>3</sup>. Пипетки не выбрасывают, а оставляют в соответствующих пробирках, так как приготовленные разведения употребляются далее для посева с целью определения фекального загрязнения молока.

Таким образом мы получаем два ряда посевов нисходящими количествами молока. Каждая из первой пары чашек будет засеяна 0,001 см<sup>3</sup> (такое количество содержится в 0,1 см<sup>3</sup> разведения 1 : 100). Каждая из второй пары будет засеяна 0,00001 см<sup>3</sup> (в 100 раз меньше), и наконец третья пара будет засеяна 0,000001 см<sup>3</sup>.

Посевы помещают в термостат при 37° на 24 часа.

В настоящее время еще не установлены стандартный срок и температура выращивания.

Некоторые авторы предлагают выращивать при 30° в течение 24 часов, другие—48 часов, а Мейер—даже 10 дней или 4 дня при 30° и 6 дней при комнатной температуре. Ввиду большой разницы в количестве вырастающих колоний в разные сроки и при разной температуре установление в этом отношении определенных стандартов является очередной задачей.

Я рекомендую 37°, так как при этой температуре мы имеем возможность в случае надобности уже через 24 часа давать ответ.

Через 48 часов производят подсчет колоний согласно правилам, изложенным при описании счета колоний при посеве воды. Для подсчета берут те чашки, где выросло наиболее удобное для счета количество.

Полученное количество колоний пересчитывают на 1 см<sup>3</sup> и вычисляют среднее из всех подсчитанных чашек.

#### Пример расчета.

1-я пара чашек (посеяно 0,001). Колоний очень много, сосчитать невозможно.

2-я пара чашек (посеяно 0,00001). В одной чашке сосчитано 400, в другой 320 колоний. Пересчет на 1 см<sup>3</sup> (умножить на 100 000) дает 40 000 000 и 32 000 000.

3-я пара чашек. В одной 17 колоний, в другой—38. Пересчет на 1 см<sup>3</sup> (умножить на 1 000 000) дает 17 000 000 и 38 000 000.

Среднее из четырех подсчетов (40 000 000+32 000 000+17 000 000+38 000 000):  $4=127\,000\,000 : 4=31\,750\,000$ .

Следовательно в 1 см<sup>3</sup> молока содержится 31 750 000 колоний.

При желании подсчитать отдельно колонии молочнокислых и разжижающих желатину микробов делают параллельно высев в меловой агар и желатину (причем желатина выращивается 3 дня при 20°). Подсчет такой же.

Исложенный метод посева имеет тот существенный недостаток, что результаты становятся известными лишь через 24 часа. При необходимости получить быстрый ответ о содержании в молоке жизнеспособных микробов можно пользоваться мало известным, но практически хорошим способом Forst (Journ. Inf. Dis., vol. 26, 176).

Исследование молока на количество бактерий по Forst. На стерильное предметное стекло наносят 0,05 неразведенного исследуемого молока, добавляют каплю агара и быстро и по возможности равномерно смешивают и распределяют на поверхности 4 см<sup>2</sup> (по транспаранту с кружком площадью в 4 см<sup>2</sup>). Снаряженные таким образом стекла помещают в большие (15 см в диаметре) чашки Петри с куском мокрой ваты для предохранения от высыхания и ставят в термостат на 4 часа. Этого времени бывает достаточно для разведения мельчайших, невидимых простым глазом колоний. По прошествии этого срока стекла быстро подсушивают, окрашивают и приступают к счету развившихся колоний. Для этого устанавливают тубус микроскопа так, чтобы диаметр поля зрения при иммерсионном объективе был равен 0,16 мм (см. способ Prescott и Breed) и сосчитывают при иммерсионном объективе среднее число развившихся колоний на площади одного поля зрения (подсчитывают 10—50—100 полей зрения как и в способе Prescott и Breed); умножением этого числа на 500 000 мы получаем число жизнеспособных микробов, способных прорасти при данных условиях, в 1 см<sup>3</sup> молока.

Park проверил этот метод путем сравнения его результатов с результатами обычного посева и не обнаружил сколько бы то ни было существенной разницы.

Преимущества этого способа: быстрота, экономия питательных сред и посуды, возможность работы в полевых условиях, исследование сравнительно большой порции молока, возможность сохранения препаратов для последующих справок.

## Определение фекального загрязнения молока

В качестве показателей фекального загрязнения молока служат, как и при исследовании воды, типичные *B. coli*. Следует лишь сейчас же отметить, что норма *coli*-титра для молока будет значительно ниже, чем для воды в силу условий его получения.

Присутствие показателей фекального загрязнения молока является доказательством негигиенических условий при доении и содержании коровников, что при соответствующих условиях может послужить



причиной «молочных» эпидемий, кроме того они сами по себе, особенно у детей младшего возраста, могут вызвать расстройства здоровья даже при употреблении пастеризованного молока, так как они с трудом убиваются при пастеризации и вызывают нежелательные химические изменения молока. К сожалению до сих пор на эту сторону бактериологического исследования молока обращалось мало внимания.

Определение фекального загрязнения можно производить разными способами; приведем два из них.

1. П р о б а B u l i r с последующей идентификацией. Берут цельное молоко и два первые разведения, приготовленные, как указано при описании способа обычного посева. Две колбы с 50 см<sup>3</sup> и 4 пробирки с разведенной средой Bulir засевают по следующей схеме:

П о с у д а	Количество засеваемой жидкости	Степень разведения молока	Абсолютное количество засеянного цельного молока
Колба № 1 . . . . .	1,0	цельное	1,0
» № 2 . . . . .	0,1	»	0,1
Пробирка № 3 . . . . .	1,0	1 : 100	0,01
» № 4 . . . . .	0,1	1 : 100	0,001
» № 5 . . . . .	1,0	1 : 10 000	0,0001
» № 6 . . . . .	0,1	1 : 10 000	0,00001

Посев цельного молока производится обязательно в колбы, так как при посеве в пробирки может произойти задержка брожения. Для посева каждого разведения пользуются отдельной пипеткой (см. выше—приготовление разведений). Посевы ставятся в термостат при 46° на 24—48 часов, после чего из посевов двух наименьших количеств молока, давших брожение, делаются высевы на среду Эндо.

Дальнейшее исследование—как и при определении coli-титра воды по способу Bulir.

Бродильным титром молока мы называем наименьшее количество молока, давшее при посеве в среде Bulir брожение при 46° через 24—48 часов.

Coli-титром молока называется наименьшее количество молока, в котором обнаружен типичный *B. coli*.

П р о б а в э с к у л и н - б у л ь о н е. Фекальное загрязнение может еще быть определено по способу, указываемому Омелянским,—посевом в жидкий бульон. Для приготовления последнего к мясо-пептонному бульону прибавляют 0,5% эскулина (глюкозид из коры каштана) и 0,5% лимоннокислого железа. Различные количества молока засеваются, как и при посеве по способу Bulir, в среду с эскулином: 1,0 и 0,1 цельного молока—в колбочки с 50 см<sup>3</sup> среды и 0,01—0,001—0,0001—0,00001—в пробирки.

Появление черного цвета свидетельствует о наличии фекальных бактерий в данном количестве молока. Чем это количество меньше, тем молоко более загрязнено.

По данным Хоррокс для предупреждения отрицательных результатов пробы на брожения (в особенности для определения титра кишечной палочки в кисломолочных продуктах) при посевах больших количеств материала, в то время как меньшие дают брожение (явление нередкое в практике определения *coli*-титра), рекомендуется добавлять к среде Bulir 1—2% розоловой кислоты вместо нейтральрота.

Розоловая кислота, задерживая развитие молочнокислых бактерий уменьшает их антагонистическое действие на кишечную палочку, которое видимо и является причиной угнетения брожения при больших количествах засеваемого материала.

### **Исследование на бактерии пороков молока**

Из пробы молока с каким-либо пороком (красное, горькое, слизистое и т. п.) делают посев в пробирку со стерильным молоком и в пробирку нормального свежего молока и оставляют при той температуре, при которой данное молоко хранилось. Если в результате посева молоко хотя бы в одной из пробирок будет обладать тем же пороком, то причиной этого порока являются бактерии. В случае надобности можно предпринять выделение чистой культуры микроорганизма, вызвавшего порок, но это сложно и не дает каких-либо ценных практических указаний.

### **Общее микроскопическое исследование молока**

Помимо специальных исследований на *B. tbc* и *streptococcus* можно производить исследование мазков на присутствие лейкоцитов. В этом случае центрифугировать не нужно, а следует приготовить мазок из капли необработанного молока, мазки обезжириваются эфиром, фиксируются и окрашиваются метиленовой синькой.

Для количественного учета лейкоцитов можно пользоваться мазками по методу Breed, Scarr или Dreyer. По Макринову нормальное молоко содержит в 1 см<sup>3</sup> 500 000—1 500 000 лейкоцитов.

### **Биологические способы оценки молока**

Помимо бактериологических методов можно употреблять и биологические, которые позволяют косвенным образом судить о бактериальной флоре молока в качественном и количественном отношении. В этом отношении большинство из них трудно отграничимо от бактериологических способов.

### **Бродильная проба**

Цель пробы—установление большего, чем в норме, количества газообразующих микробов (маслянокислых и фекальных). Для выполнения пробы берут 40 см<sup>3</sup> молока в пробирку и помещают на 12 часов в водяную баню при 38—40°. Доброкачественное молоко через 12 часов еще остается жидким и лишь позднее створаживается

в равномерную студенистую желеобразную массу. Молоко, содержащее большое количество газообразующих микробов, даст брожение, сила которого пропорциональна количеству и роду последних. Петер различает 4 тип сгустков, получающихся при пробе на брожение.

1. Желеобразный—получается при развитии в преобладающем количестве молочнокислых микробов (доброкачественное молоко).

2. Зернистый—с небольшими ноздреватостями, получается при наличии среди массы молочнокислых микробов сравнительно небольшого количества газообразующих микробов (обычно дрожжей).

3. Вспученный—сгусток с большими пустотами, частично пептонизированный, иногда плавающий на поверхности сыворотки. Получается главным образом при большом количестве *B. coli*, *B. lactis aerogenes* и *B. mesentericus*.

4. Сырный—небольшой плотный сгусток с выделением большого количества прозрачной сыворотки, получается от развития бактерий, выделяющих сычужный фермент.

Сильная пептонизация сгустка говорит за присутствие большого числа пептонизирующих видов. По Макринову молоко, бедное бактериями, дает при бродильной пробе неопределенные результаты.

### Проба на редуктазу

В молоке обнаруживается два вида редуктазы: одна—связанная с шариками молока—альдегид-редуктаза, обесцвечивающая метиленовую синьку лишь в присутствии формалина, и другая—обесцвечивающая краску сама по себе. Последняя является продуктом жизнедеятельности бактерий; чем последних больше, тем сильнее редукционная способность молока. Методика выполнения пробы следующая: пробирка с 20 см<sup>3</sup> молока, смешанного с 1 см<sup>3</sup> раствора метиленовой синьки (рецепт см. ниже), заливается жидким вазелином и помещается в водяную баню при 37—40° (можно одновременно с производством бродильной пробы). Первые 20 минут следят за пробирками непрерывно и далее—каждые 15 минут. Если молоко содержит много бактерий, то оно обесцвечивается в несколько минут, молоко среднего качества обесцвечивает краску в 2—6 часов, а хорошее не изменяет окраски и в течение 7 часов.

Приготовление раствора метиленовой синьки см. ОСТ 3033, стр. 151.

Исследования Bartel и Orla-Jensen дают возможность хотя бы схематично разбить молоко на основании отношения к пробе на редуктазу на четыре класса:

1. Окраска сохраняется 5 1/2 часов и более—молоко хорошее с содержанием не более 500 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>.

2. Обесцвечивание в 2—5 1/2 часов—молоко посредственное, содержит обычно 500 000—4 000 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>.

3. Обесцвечивание в 20 минут—2 часа—молоко плохое, содержит обычно 4 000 000—20 000 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>.

4. Обесцвечивание быстрее чем в 20 минут—молоко очень плохое, содержит свыше 20 000 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>.

Однако результаты этой пробы не могут считаться достаточно точными, ибо не все бактерии обладают редуктазой и кроме того

выделение последней микробами зависит от условий их жизнедеятельности. Поэтому эта проба в настоящее время, особенно в связи с появлением метода Forst, позволяющего определять через 5 часов количество живых бактерий в единицах объема молока, теряет свое значение.

### П р о б а н а к а т а л а з у

Методику см. ОСТ 3033, стр. 151.

Если молоко нормально, то через 2 часа в закрытом колене должно выделиться не больше 2,5 см<sup>3</sup> газа (кислорода).

При наличии бактерий, выделяющих много каталазы, например *B. fluorescens liquefaciens*, газа образуется значительно больше.

Для каталазной пробы более пригодным является свежее молоко. Большого практического значения эта проба не имеет.

### П р о б а Т р о м м с д о р ф а н а л е й к о ц и т о в (см. ОСТ 3033, стр. 152).

Р е а к ц и я п р е ц и п и т а ц и и д л я о п р е д е л е н и я  
р о д а м о л о к а и п р и м е с и ч у ж е р о д н о г о м о л о к а

Для ознакомления с принципами и общей техникой следует обратиться к общим руководствам, см. также стр. 194. Здесь же я останавлиюсь лишь на особенностях техники применения этой реакции для исследования молока.

П р и г о т о в л е н и е м о л о ч н о й и м м у н н о й с ы в о р о т к и. Крупному кролику инъцируют интравенозно по 1 см<sup>3</sup> снятого молока три раза с интервалами в 6 дней. Перед третьей инъекцией берут пробную порцию крови для ориентировочных опытов. На 7—10-й день после третьей инъекции берут кровь для получения уже готовой сыворотки.

Хорошая сыворотка должна давать ясную положительную реакцию в разведении 1 : 1 000 (Sommerfeld). Для ускорения получения сыворотки можно инъцировать три дня подряд по 5, 10, 15 см<sup>3</sup> внутрибрюшинно, но этот метод часто ведет к гибели животного (Müller и Fornet). Техника выполнения реакции: для определения, является ли исследуемое молоко коровьим, женским или смесью, Sommerfeld рекомендует ставить опыт следующим образом:

Если молоко женское, положительный результат будет в пробирках №№ 3, 4, 7.

Коровье молоко даст положительную реакцию в пробирках №№ 1, 2, 5.

Смесь того или другого даст положительную реакцию в пробирках №№ 1, 2, 3, 4, 5, 7.

В случаях необходимости дифференцировки молока близко стоящих видов животных (коза и овца) реакция эта не всегда оказывается достаточно специфичной и чувствительной. Лучше в таких случаях применять реакцию связывания комплемента.

№ проби-рок	Род молока	Разведение	Количество (в см³)	Молочная иммунная сыворотка цельная	
				род	количество
1	Исследуемое	1 : 100	1	Коровья	0,1
2	»	1 : 1000	1	»	0,1
3	»	1 : 100	1	Женская	0,1
4	»	1 : 1000	1	»	0,1
5	Коровье	1 : 100	1	Коровья	0,1
6	»	1 : 100	1	Женская	0,1
7	Женское	1 : 100	1	»	0,1
8	»	1 : 100	1	Коровья	0,1
9	»	1 : 100	1	Без сыворотки	—
10	Коровье	1 : 100	1	»	—
11	Физиологический раствор		1	Коровья	0,1
12	»		1	Женская	0,1

Реакция связывания комплемента для определения рода молока и примеси чужеродного молока

### Ингредиенты

1. Комплемент—свежая сыворотка морской свинки, разведенная 1 : 10.
2. Гемолитическая сыворотка против эритроцитов барана.
3. Отмытые эритроциты барана—2,5% взвесь.
4. Исследуемое молоко.
5. Молочная иммунная сыворотка (приготовление—см. реакцию преципитации).

Молочная сыворотка вытитровывается аналогично антигену при реакции Вассермана для определения рабочей дозы. Можно взять следующие падающие количества:

1,0, 0,75, 0,5, 0,45, 0,4, 0,35 и т. д.

Опыт ставится по следующей схеме:

№ пробирок	Исследуемое молоко		Молоко гомологичное молочной сыворотке		Молоко гетерог. молочн. сыворотке		Молочная сыворотка по титр.	Комплем. 1 : 10	Гемолит. система	
	колич.	разведен.	колич.	разведен.	колич.	разведен.				
1	0,5	1 : 5	—	—	—	—	0,5	0,5	В термостат на 45 мин. при 37°	1,0
2	0,5	1 : 50	—	—	—	—	0,5	0,5		1,0
3	0,5	1 : 500	—	—	—	—	0,5	0,5		1,0
4	0,5	1 : 5000	—	—	—	—	0,5	0,5		1,0
5	0,5	1 : 50000	—	—	—	—	0,5	0,5		1,0
6	0,5	1 : 5	—	—	—	—	—	0,5		1,0
7	0,5	1 : 50	—	—	—	—	—	0,5		1,0
8	0,5	1 : 500	—	—	—	—	—	0,5		1,0
9	0,5	1 : 5000	—	—	—	—	—	0,5		1,0
10	0,5	1 : 50000	—	—	—	—	—	0,5		1,0
11	0,5	—	0,5	1,5	—	—	0,5	0,5		1,0
12	0,5	—	—	—	0,5	1 : 5	0,5	0,5		1,0

Положительной реакция считается тогда, когда по крайней мере в пробирках №№ 1—4 будет отсутствовать гемолиз.

Пробирки №№ 6—10 и 12 должны дать гемолиз, пробирка № 11—задержку.

## ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОКА

### Значение результатов исследования на патогенных микробов

Положительный результат исследования молока на патогенных микробов имеет абсолютное значение; наоборот—отрицательные результаты не имеют никакой ценности, ибо, как выше было указано, мы наблюдали и наблюдаем большое количество эпидемий, вызванных зараженным молоком, не обнаруживая при этом тифозной палочки в молоке. В таких случаях распространение брюшного тифа через молоко устанавливается по целому ряду признаков. Такие эпидемии начинаются внезапно, дают в течение короткого времени много заболеваний, в отличие от водных эпидемий нет больших ограниченных очагов, а таковые рассеяны по разным местам. Затем характерны большое количество заболеваний среди детей, установление заболеваний среди лиц, употреблявших сырое молоко, и отсутствие таковых у лиц, пивших кипяченое молоко; прекращение эпидемии после введения пастеризации или устранения молока с зараженного хозяйства позволяет уже вполне точно установить, что именно молоко заражено *B. typhi*. Пожалуй исключением в приведенной оценке отрицательных результатов является отрицательный результат исследования на *B. tbc*, но только в том случае, если исследование производилось при помощи заражения животных и не одного, а 3—4. В таком случае и отрицательный результат представляется нам ценным, но к сожалению длинный срок исследования обесценивает метод для применения на практике. Лишь систематический ветеринарный осмотр и туберкулинизация дают гарантию против заражения молока туберкулезом. Исследования на туберкулез, не применяемые из-за их длительности для повседневного контроля молока, чрезвычайно важны для оценки результатов той или иной системы организации осмотров или туберкулинизации, для учета степени зараженности *B. tbc* рыночного молока данной местности.

При исследовании бактериальных пороков молока положительные результаты почти абсолютны, отрицательные же в общем говорят за происхождение порока молока от изменения его химического состава (вследствие неподходящего корма или других каких-либо причин), но и здесь возможна ошибка: по каким-либо причинам при пересеве на стерильное молоко микроб, вызвавший порок молока, не разовьется и не даст соответствующих изменений; мы полагаем, что такие случаи хотя теоретически и возможны, на практике настолько редки, что с ними можно не считаться.

### Оценка результатов определения общего числа микроорганизмов в 1 см<sup>3</sup> молока

Определение общего числа микроорганизмов в молоке зависит, как сказано выше, от многих факторов: от опрятности и гигиениче-

ских условий доения, хранения и транспортировки молока, его бактерицидных свойств и пр.

По количеству микроорганизмов мы можем судить о выполнении всех требуемых гигиеной условий для получения безопасного в санитарном отношении молока.

Но здесь следует указать, что для точного выяснения причин большого количества микробов в молоке, а следовательно и для открытия *locus minoris resistentiae*, попадания в молоко патогенных микроорганизмов и пр. мы не должны ограничиваться одним исследованием молока в момент поступления его к потребителю, а должны произвести ряд исследований по пути его прохождения от коровы до потребителя. При таком обследовании можно будет, сравнивая полученные данные с вышеприведенными ориентировочными цифрами, установить в одном случае—усиленное загрязнение во время доения, в другом—от посуды для сбора молока, в третьем—усиленное размножение микробов от неподходящей температуры хранения, в других случаях—все вместе и т. д.

Конечно в ряде случаев нарушение санитарных правил сможет быть настолько очевидным, что и не потребует детального обследования, но если после устранения обнаруженных в порядке простого санитарного обследования недостатков молока все же не будет получаться надлежащего качества, следует произвести такого рода обследование.

Для того чтобы иметь возможность произвести санитарную оценку молока на основании результатов определения общего количества микробов, надо установить нормы бактериального загрязнения молока.

При установлении этих норм мы должны исходить из минимально возможного загрязнения молока при условиях, которые будут и технически и экономически выполнимы и приемлемы для молочных хозяйств и торговли. Этот минимум определяется при помощи обследования молока образцовых ферм, и мы уже имеем ряд наблюдений в этом направлении.

С другой стороны, мы должны, в особенности для детского молока, учитывать максимум бактериологического загрязнения, допустимого без риска для здоровых детей. По наблюдениям Park этот максимум даже для молока, которое будет употребляться кипяченым, равен 1 000 000 в 1 см<sup>3</sup>.

К счастью практически достижимый минимум значительно меньше опасного максимума. Ввиду того что, во-первых, не всегда и не везде возможно выполнение всех гигиенических требований, необходимых для получения молока с минимальным содержанием микробов, и, во-вторых, так как часть молока потребляется взрослыми в кипяченом виде для питья и приготовления кушанья, причем даже сравнительно большое количество микробов не представляет опасности,—нет необходимости требовать от всего молока, выпускаемого на рынок, чтобы оно удовлетворяло требованиям, которые надлежит предъявлять к молоку для детей и больных. Поэтому в странах, где уже издан закон о бактериологических нормах, установлены различные категории молока с различной степенью бактериального загрязнения и для различных целей. Потребитель в зависимости от целей употребления берет ту или иную категорию молока.

Наиболее хорошо разработан закон в США; к нему мы еще вернемся, пока же заимствуем из него нормы содержания бактерий.

### Сырое молоко

Категория А	50 000	бакт. в 1 см <sup>3</sup>
» В	200 000	» » 1 »
» С	1 000 000	» » 1 »
» D	5 000 000	» » 1 »

### Пастеризованное молоко

Категория А—молоко в сыром виде, соответствующее категориям А или В для сырого молока, а после пастеризации содержащее не более 50 000 бактерий в 1 см<sup>3</sup>.

Категория В—молоко в сыром виде, соответствующее категориям А, В или С для сырого молока а после пастеризации содержащее не более 100 000 бактерий в 1 см<sup>3</sup>.

Категория С—молоко в сыром виде, содержащее не более 1 000 000, а после пастеризации—не более 500 000 бактерий в 1 см<sup>3</sup>.

В Англии (Ischak) закон говорит о 4 категориях молока:

Категория А—certified (гарантир.) сырое до	30 000	бакт. в 1 см <sup>3</sup>
» А—сырое до	200 000	» » 1 »
Пастеризованное 1	30 000	» » 1 »
Пастеризованное 2	100 000	» » 1 »

### Во Франции:

Категория А—сырое до	10 000	бакт. в 1 см <sup>3</sup>
» В—пастеризованное до	1 000 000	» » 1 » перед пастеризацией
» и	100 000	» » 1 » в момент продажи
С—обычное молоко, никаких гарантий не дается.		

В Германии, Швейцарии и других странах в законах нет указания о пределах допустимого содержания бактерий для различных сортов молока.

По принятому в СССР стандарту (ОСТ 3031) молоко в отношении содержания бактерий должно отвечать следующим требованиям.

Сырое гарантированное А—молоко не должно содержать кишечной палочки в  $1/10$  см<sup>3</sup> и более 50 000 прочих бактерий в 1 см<sup>3</sup>.

Сырое гарантированное Б—молоко не должно содержать кишечной палочки в  $1/10$  см<sup>3</sup> и более 100 000 прочих бактерий в 1 см<sup>3</sup>.

Пастеризованное молоко не должно содержать патогенных бактерий и их зародышей. По количеству остальных бактерий оно подразделяется на:

Пастеризованное А—молоко с количеством бактерий не более 100 000 в 1 см<sup>3</sup>.

Пастеризованное Б—молоко с количеством бактерий не более 300 000 в 1 см<sup>3</sup>.

Стерилизованное молоко—молоко, в котором путем специальной тепловой обработки уничтожены все жизнеспособные формы микроорганизмов.



По Demeler и Maier (Journ. of Bact. 1931) содержание в 1 см<sup>3</sup> молока более 50 000 плесневых грибов говорит за абсолютно плохое качество молока.

### Оценка результатов пробы на фекальное загрязнение

Присутствие *B. coli* в молоке следует признать нормальным явлением; практически невозможно предотвратить загрязнение молока кишечной палочкой и другими фекальными бактериями.

Поэтому мы не можем к молоку предъявлять такие же требования в отношении содержания *B. coli*, как к воде. Но все же очень сильное загрязнение молока кишечной палочкой свидетельствует о негигиенических условиях доения и служит показателем большой степени возможности передачи через такое молоко патогенных микробов из фекалий.

Для оценки молока на основании данных определения *coli*-титра следует также иметь ориентировочные нормы (см. выше—требования к молоку в СССР).

В английском законе о категориях молока мы находим следующее.

Молоко *A certified* не должно содержать *B. coli* в 0,1 см<sup>3</sup> молока, наличие *B. coli* в 0,01 см<sup>3</sup> делает обязательной пастеризацию и лишает права на категорию *A*.

В законах других стран мы не находим никаких указаний на этот счет.

Таким образом на основании опыта Англии мы можем принять в качестве ориентировочных следующие нормы:

	<i>Coli</i> -титр	Молоко
1 см <sup>3</sup> . . . . .		хорошее
0,1 » . . . . .		среднее
0,01 » и ниже . . . . .		сомнительное, требует кипячения или пастеризации перед употреблением

Что же касается результатов определения исследования титра обычного рыночного молока, то он по Jenkins колеблется от 0,1 до 0,00001. При исследовании ленинградского молока я наблюдал *coli*-титр от 1,0 (от очень хороших поставщиков молока для больных) до 0,0001.

### ПАСТЕРИЗАЦИЯ

Недостаток уверенности в отсутствии патогенных микробов во второстепенных сортах молока, добывание и хранение которых производится без соблюдения всех необходимых для получения гарантированного молока условий, и необходимость в силу уже вышеизложенных соображений выпускать эти сорта на рынок заставляют прибегать к пастеризации.

Под пастеризацией мы понимаем однократное нагревание молока в течение определенного времени и при определенной температуре, недостаточное, чтобы убить стойкие формы спорозоных микробов и даже часть вегетативных форм, но достаточное для убивания обычных вегетативных микробов, к которым относятся почти все патогенные микробы, встречаемые в молоке.

Таким образом молоко лишается патогенных микробов, и кроме того убивание большинства молочнокислых микробов приводит к более продолжительному его сохранению (консервирование).

Существует несколько способов пастеризации, отличающихся по высоте достигаемой при обработке молока температуры и времени ее воздействия: 1) 80—95°—1 минута, 2) 70—80°—30 минут, 3) 60—70°—30 минут.

Последний способ является наиболее распространенным и дает наилучшие результаты в смысле достаточного бактериеубивающего эффекта, а также в смысле минимума химических изменений, понижающих питательную ценность молока (Park); кроме того длительное прогревание дает больше гарантий, что в условиях коммерческой пастеризации молоко будет успешно обработано (Richter и Seelemann).

Пастеризация многими, в том числе и американским законом, считается хорошим средством обезвреживания молока, и потому имеется стремление все молоко подвергать пастеризации.

Следует указать, что такой взгляд не будет правильным.

Матвеев вполне справедливо указывает, что нам нужно не только «здоровое», т. е. безопасное молоко, но и молоко «живое», т. е. наиболее полезное, а при пастеризации молоко всегда теряет свою питательность в значительной степени.

Употребление сырого молока с неразрушенными витаминами является особенно важным для детей. Поэтому необходимо всегда иметь на рынке сорт молока, настолько гарантированного, чтобы его можно было употреблять в сыром виде. С другой стороны, даже проводимая пастеризация не должна заставлять забывать нас об общесанитарном, ветеринарном и медицинском надзоре над молочными хозяйствами и торговлей, ибо имеется ряд указаний, что пастеризация не всегда убивает всех патогенных микробов.

Из последних наиболее стойкой являлась *V. tbc*. По сводке, собранной Матвеевым, видно, что отдельным авторам попадались очень стойкие штаммы, погибавшие лишь при температуре в 60° в течение одного часа. Затем имеются наблюдения, что *V. tbc* после пастеризации может не быть убитой, но настолько ослабленной, что не вызовет заболевания при инъекции свинке при введении сразу после пастеризации, а через некоторое время она может восстановить свою вирулентность (Hart, Barthel, Ragsdaile, Campbell, Brown, Beattie и Levis, Матвеев).

Стрептококки также по данным некоторых авторов иногда выдерживают пастеризацию (Agers и Johnson, Plase и др.), хотя в большинстве случаев они убиваются (Davis, Salter).

Наблюдалось выживание даже штаммов микробов группы *colityphus* (Seelemann, Twiss, Vanderleck).

Следует указать, что опыты на выживаемость ставились главным образом с искусственно зараженным молоком, следовательно заражение производилось лабораторными штаммами без учета, в какой форме они находились—S или R, а это имеет громадное значение, так как лабораторные штаммы часто состоят лишь из стойких R-Form, каковые и могли выдерживать пастеризацию, в то время как S-Form являются менее стойкими. И вообще искусственное заражение да-

леко не всегда создает условия, соответствующие естественно зараженному молоку, чем и может быть объяснена часть полученных неблагоприятных результатов.

Как бы то ни было, в огромном большинстве нормальная патогенная флора при пастеризации уничтожается, и как правило молоко можно считать гарантированным, если соблюдены все установленные для пастеризации правила. Нормальная флора молока после пастеризации также значительно уменьшается в числе, и оставшиеся виды теряют свою активность и медленно размножаются (Weigmann, Wolff, Trebesch и Steffen).

Интересны находки в пастеризованном молоке неспороносных термофильных видов *Lactobacillus thermophilus* (Johnson) и *Microbacterium* (Jensen).

Молочнокислые микробы оказываются довольно резистентными и часто выживают, поэтому пастеризованное молоко может самопроизвольно свертываться.

Jenkins обращает внимание на разницу лабораторной и коммерческой пастеризаций. Первая всегда будет успешнее.

При коммерческой пастеризации благодаря прогреванию больших количеств молока зачастую в толще его не достигается нужная температура, и результаты получаются худшие; необходимо поэтому обращать внимание на равномерность прогрева, устранять дефекты терморегуляторов, гарантировать тщательность размещения и устранить загрязнение при укупорке и разливе.

По Jenkins лабораторная пастеризация снижала общее количество микробов на 94—97,5% и уничтожала вовсе *B. coli*. Коммерческая же уменьшала лишь на 91,2% и оставляла в живых часть экземпляров *B. coli*.

По нашим с Хоррокс наблюдениям при очень хорошей постановке дела (Ростовский Молзавод) можно добиться и при коммерческой пастеризации уменьшения общего количества микробов на 98,9—99,9% и титра кишечной палочки не менее 10 см<sup>3</sup>, лишь со случайными проскоками титра в 1 см<sup>3</sup>.

Вместе с тем установлено, что источниками кишечной палочки в пастеризованном молоке могут являться плохо очищаемые ванны молокохранилища, трубы и наконец бутылки.

При стоянии в холодильных камерах (4—8%) пастеризованного молока содержание кишечных палочек не увеличивалось в течение 48 часов.

С этими данными интересно сопоставить данные Kohn о титре кишечной палочки в пастеризованном молоке частных фирм (Prag. Arch. Tiermed, 1932), достигающем в бутылочном молоке (летом) 0,00001 см<sup>3</sup>.

К недостаткам пастеризации относится еще возможность уничтожения молочнокислых и сохранения в живых спороносных бактерий, которые, беспрепятственно размножаясь, делают молоко негодным к употреблению.

Кроме пастеризации иногда употребляется стерилизация нагреванием в течение 15 минут при 115—120°; такое молоко является стерильным, но его химическая структура чрезвычайно резко меняется.

Консервирование молока пастеризацией против размножения микробов может быть иллюстрировано следующей таблицей:

Сырое молоко		Пастеризованное при 71° 1 минуту		Примечание
I	II	I	II	
600 000	5 400 000	1 000	600	В день пастеризации Через 24 ч. при 7° Через 48 ч. при 7°
6 300 000	21 600 000	900	3 000	
16 200 000	63 000 000	10 000	90 000	

### Особенности исследования пастеризованного и стерилизованного молока

Выше уже указывалось, что пастеризованное молоко до пастеризации, чтобы быть пригодным для детей младшего возраста, должно содержать не более определенного числа микробов.

Это заставляет, не ограничиваясь определением числа микробов в уже пастеризованном молоке, производить таковое до пастеризации. В случае невозможности такого обследования и необходимости хотя бы приблизительно выяснить загрязненность молока до пастеризации производят параллельно исследование посевом и непосредственным счетом на мазках.

Вообще же говоря, последний метод при пастеризованном молоке не дает ответа о количестве бактерий в нем и поэтому не должен употребляться сам по себе.

Для отличия сырого от гретого молока лучше всего употреблять реакцию с гваяковой смолой, бензидином и paraphenylendiamin. Каталазная реакция с метиленовой синькой часто дает неверные результаты.

В остальном исследование пастеризованного молока одинаково с исследованием сырого молока.

Молоко стерилизованное не должно вовсе содержать микробов.

Для контроля стерильности ставят пробу молока при 37° на 24 часа и затем засевают 0,1 молока, смешивая его с расплавленным и остуженным до 43° сахарным агаром с последующим выливанием смеси в чашки Петри, а также выращивают в высоком слое для получения роста анаэробов. Кроме того параллельно каплей исследуемого молока заражается бульон аэробно и анаэробно. Посевы выдерживаются в термостате в течение 3 дней при 22° и 24 часа при 37°. С бульона делается пересев в агар, так как мутность бульона от внешнего при засеве молока и наличие в мазках сравнительно большого количества мертвых микробов делают неприменимыми другие способы для установления наличия роста в бульоне.

Sommerfeld рекомендует следующий план исследования молока:

#### I. Внешне нормальное свежее молоко

Количественное и качественное определение бактериальной флоры.

Исследование на особые виды.

Исследование на патогенных бактерий (В. tbc и т. д.).

Испытание на сырое состояние.

Микроскопия осадка.  
Лейкоцитарная и редуцтазная пробы.

## II. Г р е т о е   м о л о к о

Количественное и качественное определение бактериальной флоры.  
Бродильная, каталазная и редуцтазные пробы.

## III. М о л о к о   с   п о д о з р е н и е м   н а   в о с п а л и т е л ь н о е   с о - с т о я н и е   в ы м е н и

1. При отдельных образцах—лейкоцитарная проба, микроскопия осадка, исследование на В. тбс, каталазная проба.
2. При рыночном или смешанном молоке—то же без каталазной пробы.

## IV. М о л о к о   с   п о р о к о м

Редуцтажная, бродильная проба.

Выращивание бактерий при температуре, имевшей место при хранении исследуемого молока.

Испытание выделенных видов на способность давать такой же порок.

В заключение приводим общесоюзный стандарт на биобактериологическое исследование молока.

# ОБЩЕСОЮЗНЫЙ СТАНДАРТ—ОСТ 3033<sup>1</sup>

**Молоко коровье цельное, предназначенное для непосредственного потребления в пищу**

## Биобактериологическое исследование

### А. ОТБОР СРЕДНЕЙ ПРОБЫ

а) Для биобактериологического исследования отбирается проба в особую посуду, ранее и отдельно от пробы, предназначенной для физико-химического исследования.

б) Перед выемкой пробы молоко должно быть тщательно перемешано.

Если в данном сосуде, без внесения в него загрязнения извне, возможно достигнуть перемешивания путем переворачивания сосуда, то сосуд с молоком для перемешивания переворачивается 8—10 раз. Если такое переворачивание сосуда произвести невозможно, то молоко должно быть тщательно перемешано той стерильной пипеткой, которой будет браться проба, или же перемешивание производится при помощи специальных приспособлений.

в) Для биобактериологического исследования берется проба в количестве 100 см<sup>3</sup>.

В тех случаях, когда требуется производство эпидемиологического исследования, проба берется в количестве не менее 300 см<sup>3</sup>.

г) Выемка проб производится цилиндрической стеклянной пипеткой.

д) Отобранная проба помещается в чистую сухую стеклянную банку с тщательно притертой пробкой или хорошо пригнанной чистой каучуковой и лишь в крайних случаях чистой корковой пробкой.

<sup>1</sup> Утвержден Всесоюзным комитетом по стандартизации при Госплане СССР 30/V 1931 г. как обязательный с I/VII 1931 г.

е) Стеклянная посуда и аппаратура, служащая для выемки проб, должны быть стерильны.

Если пользуются каучуковой или корковой пробкой, то каждая пробка отдельно должна быть завернута в бумагу и подвергнута стерилизации.

ж) При исследовании бутылочного молока проба берется непосредственно в оригинальной упаковке.

з) Непосредственно вслед за взятием пробы отмечается температура молока, после чего последнее по возможности охлаждается до температуры, близкой к 0°.

и) Транспорт проб должен производиться в переносном леднике или при других условиях, обеспечивающих температуру не выше +10°; при этом срок между выемкой пробы и производством посевов из нее не должен превышать 12 часов. Однако если посев из пробы был сделан по истечении более 4 часов после ее взятия, то число часов, прошедшее со времени взятия пробы до времени производства посева, должно быть оговорено.

к) При невозможности транспортировать пробы в охлажденном состоянии посевы для счета колоний и для определения титра кишечной палочки производятся на месте взятия проб, если местные условия подходят для лабораторной работы.

## Б. ОБЩЕБАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

### І. Счет количества колоний (метод чашек Петри)

а) Приготовление среды для посева. На 1 000 см<sup>3</sup> воды берут: агара лучшего качества, не пересушенного, 15 г, мясного экстракта 5 г, пептона 10 г.

Примечание 1. При наличии в агаре солей и загрязнений таковые должны быть удалены размачиванием и промыванием. При отсутствии мясного экстракта допускается пользоваться мясной водой, приготовленной обычным способом, с прибавлением 0,5% поваренной соли.

Примечание 2. Пептон должен быть фирмы Витте или после проверки оказаться ему равноценным.

Примечание 3. Мясной экстракт должен быть Либиха или после проверки оказаться ему равноценным.

Реакция готовой среды должна быть 6,6 рН с допустимыми колебаниями от 6,2 до 7,0. Она подлежит повторной проверке при длительном хранении, причем отклонения от указанных чисел более чем на 0,4 подлежат корригированию.

б) Подготовка пробы для посевов и посев. Перед посевом на агар молоко разбавляется стерильной водой. Разведения надлежит делать десятикратные от 1 : 100 до 1 : 100 000.

Для каждой пробы необходимо делать три из следующих четырех разведений: 1 : 100, 1 : 1 000, 1 : 10 000 и 1 : 100 000. Выбор степени разведений зависит от предполагаемой степени загрязнения молока.

Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве 1 см<sup>3</sup> на две чашки Петри.

Только при технической невозможности пользоваться двумя чашками для каждого разведения допускается производить посев из каждого разведения лишь в одну чашку.

**Примечание.** Для каждого разведения желательно пользоваться отдельной пипеткой; во всяком случае отбрасывание первой пипетки является обязательным, в остальном посев производится по общепринятым правилам бактериологической методики.

в) **Выращивание.** После посевов чашки Петри выдерживаются в термостате для выращивания при  $37^{\circ}$  в течение 48 часов.

г) **Счет колоний и запись результатов.** Счет колоний должен вестись с помощью лупы при увеличении в 8—10 раз. Полученные при счете числа увеличиваются соответственно примененным разведениям. В качестве окончательного результата служит среднее арифметическое, полученное для чисел при счете колоний на всех засеянных чашках Петри. Однако точный подсчет с вычислением среднего арифметического производится лишь в тех случаях, когда наименьшее разведение дает более 20 колоний, а наибольшее — менее 500 колоний. В противном случае к точному подсчету прибегать не следует, и конечный результат надлежит выражать лишь приближенно, а именно: если наименьшее разведение (1 : 100) дало менее 20 колоний, то записывают, что из 1 см<sup>3</sup> молока выросло менее 2 000 колоний; если наибольшее разведение (1 : 100 000) дало свыше 500 колоний, то записывают, что на 1 см<sup>3</sup> молока выросло более 50 000 000 колоний.

## II. Определение титра кишечной палочки

Определение титра кишечной палочки производится по методу Eikmann-Bulir с последующей идентификацией (установление принадлежности бактерий к определенному виду) тех культур, которые дали газообразование, муть и изменение окраски среды Bulir или же только муть и изменение окраски среды или газообразование и муть.

а) **Аппаратура для определения титра кишечной палочки.** Определение титра лучше всего вести в изогнутых пробирках (рожках) со вздутием у открытого конца. За неимением таких пробирок допускается пользование обычного типа пробирками вместимостью около 20 см<sup>3</sup> и достаточно широкими, чтобы помещаемая внутри опрокинутая малая пробирка для собирания газа удобно могла заполняться при разливке пробы.

б) **Приготовление среды Eikmann-Bulir.** 1 кг мелко изрубленного мяса настаивают 1 сутки с 2 л воды. Настой фильтруют через полотно. К 1 л фильтрата прибавляют 25 г пептона (Витте), 15 г хлористого натрия и 30 г маннита; смесь кипятят 30 минут и фильтруют. После этого среду приводят к нейтральной реакции, добавляя в нее раствор соды, и стерилизуют. Заготавливают также отдельно водный раствор краски нейтральрот 1 : 1 000.

в) **Подготовка пробы для посева и посев.** Молоко готовят для посева на титр кишечной палочки так же, как и для счета на чашках Петри.

Для каждой пробы необходимо делать три из следующих четырех разведений: 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1 000 и 1 : 10 000, причем выбор разведений находится в зависимости от предполагаемого качества молока.

Из исследуемой пробы, пользуясь соответствующим разведением, берут 1 см<sup>3</sup>.

Разведение каждой дозы стерилизованной водой ведут с тем расчетом, чтобы каждая доза была заключена в 10 см<sup>3</sup> воды. К каждому такому разведению добавляют половинное количество, т. е. 5 см<sup>3</sup> среды Bulir и туда же прибавляют раствор краски нейтральрот в количестве 2% (т. е. 0,3 см<sup>3</sup>). Среда должна быть тщательно смешана с разведенным молоком.

г) В ы р а щ и в а н и е. Выращивание производят в течение 48 часов в термостате при температуре 44—46°.

Полученный вышеизложенным способом материал является достаточным для ориентировочного заключения.

В тех случаях, когда требуется более детальное заключение, в частности при санитарно-эпидемиологическом исследовании, требуется последующая идентификация как предварительная, так и окончательная.

П р е д в а р и т е л ь н а я   и д е н т и ф и к а ц и я. Из каждого рожка или из каждой пробирки с измененной средой Eikmann-Bulir делают отсеvy мазками на чашках Петри со средой Эндо. Характерный для кишечной палочки рост на среде Эндо учитывают по истечении 48 часов при 37°.

## П р и г о т о в л е н и е   с р е д ы   Э н д о

На 1 000 см<sup>3</sup> дистиллированной воды берут:

Мясного экстракта (Либиха) . . . . .	5 г
Пептона (Витге) . . . . .	10 »
Агара . . . . .	30 »

Смесь кипятят, пока агар не растворится, пополняют потерю от выпаривания добавлением дистиллированной воды, устанавливают рН 8,0—8,2; затем агар кипятят на голом огне при повторном помешивании и фильтруют через вату.

Можно прибегнуть также и к следующему приему: нагревать налитый в цилиндрический сосуд агар в автоклаве при 120° 15 минут и медленно остудить; вынув сосуд из автоклава, вытряхнуть агар на чистую бумагу и удалить ножом нижний мутный слой застывшего агара; чистые верхние слои разрезать на куски, расплавить, разлить в сосуды емкостью по 100 см<sup>3</sup> и снова стерилизовать при 120° 15 минут.

Одновременно готовят 10% раствор основного фуксина в 95% алкоголе. После стояния в течение 24 часов раствор краски сливают с оставшегося нерастворенным фуксина и фильтруют. Фильтрат представляет собой насыщенный раствор. Для приготовления чашек со средой Эндо расплавляют необходимое количество агара и прибавляют к каждому 100 см<sup>3</sup> его ингредиенты в порядке, указанном ниже.



1. 1 г химически чистой лактозы растворяют в 2 см<sup>3</sup> воды, простерилизованной 1 час в аппарате Коха.

2. 0,5 см<sup>3</sup> раствора основного фуксина, к которому ех температуре прибавлено свежеприготовленного раствора безводного сернистокислого натрия в дистиллированной воде 0,125 г; при пользовании кристаллическим сернистокислым натрием ( $\text{Na}_2\text{SO}_3 + 7\text{H}_2\text{O}$ ) указанная навеска удваивается. Работают все время стерильно (посуда, вода), так как среда после не стерилизуется.

После прибавления каждого из указанных ингредиентов смесь тщательно перемешивают, разливают по чашкам и в течение некоторого времени (например 15 минут), высушивают в термостате при 37°.

О к о н ч а т е л ь н а я   и д е н т и ф и к а ц и я. Выделенные среды Эндо чистые штаммы подлежат окончательной идентификации, причем за типичную кишечную палочку признается палочка:

1. Морфологически соответствующая кишечной палочке.
2. Обладающая подвижностью, хотя бы мало выраженной.
3. Не окрашивающаяся по Граму.

4. Не разжижающая желатины; для установления этого свойства чашку с посевом на желатине ставят в термостат при 37° на 48 часов, а затем культуру на расплавленной желатине подвергают охлаждению и смотрят, застыла ли желатина.

5. Свертывающая молоко; наступление свертывания устанавливается через 48 часов после пребывания в термостате при 37°. Если молоко в течение этого срока не свернулось, то желательное определение кислотности его путем титрования, причем как низший предел для *V. coli* следует принять 55° Тернера.

6. Вызывающая брожение с образованием газа и кислоты в средах с лактозой и глюкозой при 37° через 24 часа; общий процент для таких сред: на 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды—3 см<sup>3</sup> лакмусовой настойки, 0,5 г сахара, 1 г пептона, 0,5 г хлористого натрия; рН=7,2—7,3.

7. Образующая индол; индолообразование определяется в пептонной воде или в среде Герсбаха<sup>1</sup>.

### Приготовление среды Герсбаха

В дистиллированной воде растворяют 1% пептона и 0,5% NaCl, кипятят в течение часа, охлаждают до 40°, нейтрализуют и подщелачивают до рН=7,2—7,4. После этого добавляют:

Трипсина Грюблера . . . . .	0,02%
Фосфорнокислого калия . . . . .	0,02%
Сернистой магниези . . . . .	0,002%
Хлороформа . . . . .	1%
Толуола . . . . .	1%

Указанную смесь ставят в склянке с притертой пробкой в термостат на 24—48 часов, фильтруют, разливают по пробиркам и стерилизуют.

<sup>1</sup> Несмотря на отсутствие в ОСТ указаний представляется чрезвычайно желательным испытывать выделенные культуры на способность сбраживать маннит при 44—46° (см. стр. 79).

## Реактив на индолообразование:

Порад иметиламидобензальдегид . . . . .	} 5% поровну
Этиловый спирт 96 % . . . . .	
Соляная кислота (уд. вес 1,16) . . . . .	

Реакцию на индол производят через 24 и 48 часов после засева.

В сомнительных случаях производят подогревание и извлечение окраски амиловым спиртом или хлороформом. ●

Примечание. При отсутствии индолообразования отмечается В. со<sup>1</sup> anindolicum (кишечная палочка, не образующая индола).

## Учет результатов

При учете результатов на титр кишечной палочки необходимо считаться с возможностью, когда больший объем даст отрицательный, а меньший—положительный результат. В таком случае титр кишечной палочки равняется объему молока, предшествующему наименьшему объему, давшему плюс.

Например 10 см<sup>3</sup> молока дают положительный результат, 1 см<sup>3</sup>—отрицательный результат, 0,1 см<sup>3</sup>—положительный результат; положительный ответ определяется 1 см<sup>3</sup>.

Если например 10 см<sup>3</sup> и 1 см<sup>3</sup> дают отрицательный результат, 0,1 см<sup>3</sup> дает положительный результат; или же 10 см<sup>3</sup> дают отрицательный результат, 1 см<sup>3</sup> дает положительный результат, а 0,1 см<sup>3</sup> дает отрицательный результат, то следует признать, что такие пробы не подлежат данному способу оценки. Подобные результаты отмечаются в протоколе исследования, но в то же время для определения титра кишечной палочки требуется вторичное исследование молока.

## В. БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

а) П р о б а н а р е д у к т а з у. В пробирку наливают 20 см<sup>3</sup> молока и 1 см<sup>3</sup> раствора метиленовой синьки; жидкости смешивают; пробирку закрывают металлическим колпачком или резиновой пробкой, или же в пробирку наливают 1—2 см<sup>3</sup> жидкого парафина; затем пробирку ставят на водяную баню или в термостат при температуре 37—40°. Моментом окисления испытания на редуктазу считается полное обесцвечивание молока.

Примечание. Наличие окрашенного кольцевидного слоя в верхней части пробирки или наблюдаемая иногда окраска небольшой части внизу пробирки в расчет не принимаются.

### Приготовление реактива

Раствор метиленовой синьки готовят следующим образом: в колбочку емкостью около 50 см<sup>3</sup> наливают 10—20 см<sup>3</sup> 96° спирта и всыпают 5—8 г метиленовой синьки Грюблера; содержимое колбочки многократно взбалтывают и настаивают 2 часа (лучше до следующего дня). Отстоявшийся раствор осторожно сливают и фильтруют через обыкновенный фильтр. К 5 см<sup>3</sup> полученного таким образом фильтрата прибавляют 195 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

б) П р о б а н а к а т а л а з у п о Ф у н к е. Во внешнюю трубку прибора Функе наливают 15 см<sup>3</sup> молока, подогретого до 25° и 5 см<sup>3</sup> 1% перекиси водорода.

Смешав жидкость круговыми движениями, тотчас вставляют внутреннюю трубку, отмечают уровень, на котором станет молоко на внутренней трубке, выдвигая или вдвигая ее в резиновую пробку. Желательна установка уровня жидкости на 0 или несколько выше, но не превышая 0,5 деления. Помещают каталазник в баню при 25°, записав показание шкалы. Каждые 15 минут в течение двух часов отсчитывают высоту уровня жидкости во внутренней трубке, которая будет соответствовать объему выделившегося из перекиси водорода под влиянием фермента каталазы кислорода.

### Устройство прибора Функе

Прибор состоит из двух трубок, вдвигающихся одна в другую; внутренняя трубка задерживается в наружной при помощи резиновой пробки. Внутренняя трубка имеет с обеих сторон отверстия, нижний конец вытянут конусообразно; почти по всей трубке нанесена шкала с делениями от 0 до 9, причем большие деления возле 0 постепенно уменьшаются к 9.

**П р и м е ч а н и е.** Каталазники с равномерными делениями шкалы непригодны для производства анализа, так как дают ошибку на 30—40%.

Применение пробы на каталазу имеет значение при исследовании молока, полученного от одной коровы.

**в) П р о б а н а л е й к о ц и т ы п о Т р о м м с д о р ф у.** 10 см<sup>3</sup> молока наливают в специальные пробирки Троммсдорфа с суженным концом, в котором собираются после центрифугирования все клеточные элементы.

Центрифугируют 5 минут при 1 200 оборотах в минуту.

Осевшая грязь молока обычно отделяется довольно резко по своей серовато-черной окраске от окрашенного в желтый цвет слоя лейкоцитов. В случае неясности в оттенках цвета молоко почти все выливают из пробирки (в капилляре молоко должно быть оставлено), в пробирку прибавляют дистиллированную воду и закрывают пробкой. Пробирка переворачивается, и пузырьки воздуха, которые были под пробкой, поднимаются вверх в капилляр и останавливаются между оставшимися в капилляре молоком и слоем грязи и лейкоцитов, одновременно разграничивая их настолько, что толщина осадка определяется легко.

**П р и м е ч а н и е.** Применение пробы рационально лишь в тех случаях, когда является необходимость и имеется возможность проследить путь молока от потребителя до индивидуального источника (больной коровы).

**г) П р о б а н а б р о ж е н и е.** Пробирки наполняют молоком так, чтобы верхний уровень молока был на 1 см ниже верхнего края пробирок. Наполненные пробирки помещают в водяную баню при 38—40° на 24 часа.

Регистрация результата должна производиться спустя первые 12 часов, а затем спустя вторые 12 часов после помещения пробирок в водяную баню. Сгусток должен иметь вид однородного желе без выделения сыворотки и газов, с приятным чисто кислотным запахом и вкусом.

Характер изменений проб в бродильном аппарате отмечают условными буквами согласно нижеследующей таблице:

Тип А—Проба жидкая. Свертывания еще не наступило.

Тип А<sub>1</sub>—Молоко совершенно жидкое, сладкого или чисто кислого вкуса.

Тип А<sub>2</sub>—Под слоем сливок замечается немного сыворотки, но свертывания не видно.

Тип А<sub>3</sub>—Начало свертывания.

Тип Б—Проба желатинообразная; равномерный сгусток, похожий на желе, без значительного выделения сыворотки.

Тип Б<sub>1</sub>—Сгусток, похожий на желе, без всякого выделения сыворотки.

Тип Б<sub>2</sub>—Заметно несколько полосок и пустоты с сывороткой в сгустке.

Тип Б<sub>3</sub>—Полосы, пустоты с сывороткой или трещины в сгустке; слабое выделение сыворотки.

Тип В—Проба сыровидная; сгусток более или менее уплотнился в сырок; выделившаяся сыворотка зеленоватого цвета и слегка кислая.

Тип В<sub>1</sub>—Сгусток только начал стягиваться в сырок; выделение сыворотки слабое.

Тип В<sub>2</sub>—Сырок сжался как карандаш; зеленоватая и слабокислая сыворотка.

Тип В<sub>3</sub>—Сырок сильно сжался, отчасти он волокнист; сыворотка скорее беловатого цвета.

Тип Г—Сгусток выпал в виде зерен или хлопьев; выделившаяся сыворотка беловатая, желтоватая или какого-либо другого ненормального цвета.

Тип Г<sub>1</sub>—Сгусток мелкозернист или отчасти даже равномерен.

Тип Г<sub>2</sub>—Сгусток крупнозернист; выделение сыворотки заметное.

Тип Г<sub>3</sub>—Сгусток состоит из крупных хлопьев; он разорван беловатой или другого ненормального цвета сывороткой.

Тип Д—Проба бродит; замечается в большей или меньшей степени газообразование.

Тип Д<sub>1</sub>—Пузырьки газа в сливочном слое или в сгустке.

Тип Д<sub>2</sub>—Сгусток и сливки все пронизаны пузырьками газа.

Тип Д<sub>3</sub>—Сгусток совершенно вспучился как губка.

Кроме того рядом с обозначением типа пробы делаются следующие отметки:

Гр.—грязные сливки или грязный осадок на дне.

Восп.—осадок на дне от воспаления вымени у коров.

Тяг. сл.—сливки сделались тягучими.

Тяг. сыв.—сыворотка стала тягучей.

Горьк.—горький вкус у жидкой пробы.

Запах—сильный дурной запах (особенно у пробы с грязью или от коров, больных воспалением вымени).

## Г. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

а) Анализ на длинных стрептококков—возбудителей воспаления вымени. Ввиду того что длинные сапрофитные стрептококки, вполне сходные с патогенными, нередко могут быть находимы в пробах молока от совершенно здоровых коров (особенно в пробах постоявших), нахождение такого рода микроорганизмов не может свидетельствовать о присутствии возбудителей воспаления вымени. Подозрение в этом случае создается при наличии в молоке, простоявшем не более 6—7 часов после доения, очень большого числа длинных стрептококков (если при микроскопическом исследовании на мазках молока число отдельных кокков, расположенных длинными цепями, превышает 1 млн. на 1 см<sup>3</sup> пробы молока). Равным образом подозрение создается и в случае присутствия в пробе молока фибрина и рН выше 6,8 (в связи с поступлением щелочных веществ из кровяной сыворотки в молоко при воспалении вымени).

При исследовании необходимо учитывать также и результаты испытания на лейкоциты по способу Троммсдорфа. Вообще достоверное суждение может быть вынесено на основании ветеринарного осмотра и наблюдения животного.

б) Анализ на присутствие палочек брюшного тифа и паратифов, дизентерии и кертнеровской палочки энтерита. При этом анализе производятся: центрифугирование 20 см<sup>3</sup> молока, посев как осадка, так и верхнего слоя на среду Фикер-Гофмана, выделение микроорганизмов на дифференциальных средах и идентификация их путем определения морфологических и биохимических свойств и реакции агглютинации (характерного склеивания под влиянием специальной сыворотки).

Примечание. При производстве исследования на наличие бактерий данной группы необходимо также производить определение титра кишечной палочки с последующей полной идентификацией.

в) Анализ на присутствие палочек туберкулеза. При анализе на туберкулез производят: центрифугирование 100 см<sup>3</sup> молока, исследование осадков и жировых слоев параллельно как на мазках (бактериоскопически), так и путем подкожного впрыскивания морским свинкам (не менее трех свинок для впрыскивания осадков и двух-трех свинок для впрыскивания жировых слоев).

## БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

### СЛИВКИ

Исследование производится аналогично исследованию молока. Бактериологические нормы мало где установлены. Schraeder, Dawson и Leeta считают, что для сливок должна применяться норма, установленная для молока. Однако в ряде городов США в сливках допускают гораздо большее содержание бактерий, чем в молоке (в 2—6 раз). Последнее находит себе оправдание в том, что сливки труднее получить с малым числом бактерий, ибо при отделении сливок вместе с жировыми шариками увеличивается значительное количество микробов, которые при этом концентрируются из всего молока в сливочном слое.

### Мороженое

Мороженое, особенно при полукустарном или кустарном приготовлении, а также при несоблюдении строгого санитарного режима даже в Молкомбинатах может содержать значительное количество микроорганизмов, в том числе патогенных, из числа встречающихся в молоке.

Не предохраняет против этого и проводимая при приготовлении пастеризация, в особенности если она проводится неточно.

Содержание бактерий на 1 г продажного мороженого по данным разных авторов:

А в т о р	Количество бактерий на 1 г
Hoffmann и Reinke . .	200—100 000 000
Fabian . . . . .	100 100— 1 000 000 и выше
Schede . . . . .	1 000—280 000 000
Орлов . . . . .	7 800— 284 000

В Калифорнии установлена норма содержания бактерий в 150 000 на 1 г.

Fabian считает возможным установить норму содержания бактерий на 1 г в 100 000 микробов.

Фишер (цит. по Орлову) предлагает следующую классификацию:

Количество бактерий на 1 см <sup>3</sup>	Оценка
0— 25 000 . . . .	Высшее качество
25 000— 50 000 . . . .	Хорошее
50 000—100 000 . . . .	Удовлетворительное
100 000—300 000 . . . .	Плохое
300 000 и выше . . . .	Очень плохое

В загрязненном мороженом находится, и иногда в очень большом количестве, и кишечная палочка.

Hoffmann и Reinke наблюдали титр до 0,0001. По Орлову титр может быть до 0,000001.

Указания о нормах кишечной палочки колеблются от 1 до 10 г (Hoffmann).

Из патогенных бактерий в мороженом могут находиться те же виды, что и в молоке.

Понятно, что сохраняемость патогенных бактерий в мороженом велика и превышает практически сроки хранения мороженого.

С моей точки зрения при правильном санитарном режиме бактериальные показатели мороженого не должны отличаться от таковых пастеризованного молока по ОСТ.

Методика исследований такая же, как при исследовании молока. Только мороженое предварительно растапливается и тщательно перемешивается.

## Масло

Масла делятся на различные сорта. Из них главными являются сливочное и топленое масла.

Сливочное масло готовится из свежих и сквашенных сливок.

Те и другие употребляют для приготовления масла в гретом или негретом виде. Наконец все эти сорта масла бывают соленые и несоленые. Масло из гретых и свежих сливок носит название парижского сладкого масла и парижского соленого масла. Масло из негретых свежих сливок носит название простого сливочного масла. Масло из сквашенных гретых сливок называется экспортным, а из негретых—голландским.

Топленое (русское, сибирское) масло есть продукт перетопки масла или сметаны.

Микрофлора масла незначительная: содержание азотистых веществ и соление большинства сортов масла делают его непригодным для сильного размножения микробов.

Все же число бактерий на 1 г от десятков тысяч до десятков миллионов.

В общем микрофлора масла зависит от сорта молока. В масле из свежих сливок количество микробов сравнительно с бактериальной

флорой рыночного молока невелико и сначала возрастает и только через несколько дней начинает уменьшаться. В старом масле из кислых сливок количество микробов велико, но постепенно с течением времени оно уменьшается. В старом масле уже встречается мало микробов.

По Макринову масло из кислых сливок содержит тотчас же по приготовлении до 20 000 000 бактерий в 1 см<sup>3</sup>, а через две недели—иногда только тысячи.

Главная масса бактерий в таком масле—это *B. lactis acidij* Leichmann, которая присутствует почти в чистой культуре и является необходимой для правильного созревания масла.

С течением времени появляются на поверхности масла плесени и дрожжи, которые уже создают благоприятные условия для развития и разных других посторонних бактерий.

С течением времени молочнокислая флора уменьшается. Когда начинают преобладать не молочнокислые бактерии, появляются первые признаки порчи.

Масло из свежих сливок имеет микрофлору, идентичную таковой у молока.

С течением времени начинает преобладать *B. lactis acidij*, затем появляются плесени, дрожжи и молочнокислые палочки, очень сильно увеличивающие кислотность масла.

Изменения в количестве бактерий в масле при его хранении можно видеть из следующей таблицы Jensen:

Масло из свежих сливок	Число бактерий в 1 г	
	Снаружи	Внутри
Свежее . . . . .	2 500 000	4 600 000
Через 2 дня . . . . .	59 000 000	19 000 000
» 6 недель . . . . .	1 600 000	480 000
Масло из сметаны		
Свежее . . . . .	11 000 000	13 000 000
Через 1 неделю . . . . .	16 000 000	2 000 000
» 4 недели . . . . .	2 480 000	640 000

Из этой таблицы видно, что внутри масла обыкновенно бывает меньше микроорганизмов.

Каких-либо норм для содержания бактерий в масле не существует. При санитарном надзоре следует обратить внимание главным образом на количество бактерий в сливках, употребляемых для приготовления масла.

Исследование уже готового масла может дать указания, ценные быть может для санитарной оценки в случаях лишь резкого отклонения от указанных выше примерных цифр. К ним следует еще добавить, что в сладком сливочном масле количество бактерий может доходить до 50 и больше миллионов. Что касается качественной стороны, то мы в масле, как и в молоке, можем встретить ряд бактерий, вызывающих порчу масла, в общем сходных с таковыми молока. К ним следует лишь прибавить бактерии, вызывающие расщепление жира, прогорькание масла, различные плесени, также разрушающие масло.

Прогорькание масла вызывается *B. fluorescens*, *B. putridus*, *Oidium lactis*, *Cladosporium butyr*, *Penicillium glaucum* и др.

Наблюдаются аналогично молоку пороки масла микробиологического происхождения: гнилостный запах, горький и рыбный вкус.

Патогенные бактерии могут или попадать в уже готовое масло с водой для его промывки, либо случайно, либо переходить из молока и сливок. Возможность такого перехода доказана исследованиями Bruck, Weshburn, de Royland для *B. typhi* и Спектор для *V. cholerae asiaticae* в масле из свежих сливок.

Далее в масле могут быть обнаружены и сохраняться туберкулезные палочки (Велинсон и Николаевская нашли *B. tbc* в 16,5%), *Brucella*, *B. anthracis*, *B. paratyphi*, *B. coli* (Diener нашел *B. coli* в 75% проб масла и иногда наблюдал *coli*-титр 0,00001).

Большое значение имеет загрязнение масла плесенью. В 1926 г. наблюдалась целая эпидемия среди партий экспортного масла. Виной сильного поражения масла плесенью являются загрязненное влажное помещение, воздух, тара и соль.

В общем отдельные экземпляры плесени встречаются в масле постоянно; только при очень большом загрязнении масло начинает портиться и становится порочным.

Из плесеней мы находим в масле *Oidium lactis*, *Penicillium glaucum*, *Mucor mucedo* и *racemosus*.

Прогорькание масла вызывается главным образом *B. fluorescens*, *B. putrificus*. Jensen кроме этих постоянно встречаемых в прогорьком масле микроорганизмов находил следующие: *B. aerogenes*, *B. fluorescens*, *B. prodigiosus*, *B. microbutyricus liquefaciens*.

Продолжительность жизни патогенных микробов в масле довольно велика и пожалуй больше, чем в молоке, так как хотя в нем нет таких благоприятных условий для размножения, как в молоке, но зато благодаря очень вялой жизнедеятельности микробов неблагоприятное влияние конкуренции различных сапрофитов видимо не проявляется так сильно, как в молоке:

Бактерии	Продолжительность жизни в днях
<i>B. typhi</i> . . . . .	До 24
<i>B. dysenteriae</i> . . . . .	» 9
<i>B. tbc</i> . . . . .	» 90
<i>Micrococcus melitensis</i> . . . . .	» 21
<i>B. cholerae asiaticae</i> . . . . .	» 35

Таким образом при бактериологическом анализе масла для санитарных целей мы исследуем его главным образом на содержание патогенных бактерий. Значение общего числа бактерий, как выше уже было указано, для санитарной оценки масла представляется еще невыясненным.

Делались и делаются попытки подойти к оценке масла по содержанию плесневых грибов.

Масу и Richie Hood и White (цит. по Орлову) предлагают следующий плесневой и дрожжевой стандарт для сливочных масел из пастеризованных сливок:



0— 10 . . . . .	Превосходное
11— 50 . . . . .	Хорошее
51—100 . . . . .	Удовлетворительное
100 и выше . . . . .	Плохое

Реальность и практичность этих норм еще не может считаться установленной.

Орлов считает более практичным стремление ввести нормы бактериального содержания в сырых предпастеризационных и пастеризованных сливках, идущих для приготовления масла; нормы эти видимо должны быть одинаковы с нормами молока.

В некоторых городах США в сливках допускается содержание бактерий в 6 раз большее, чем в молоке.

О количестве различных видов бактерий в масле дает представление следующая таблица (Тейхерта):

Среднее 15 проб соленого масла из сквашенных сливок

Молочнокислые бактерии . . . . .	8 595 000
Дрожжи <i>Torula</i> . . . . .	1 326 000
<i>Oidium lactis</i> . . . . .	58 000
Красные дрожжи . . . . .	15 100
<i>Penicillium glaucum</i> . . . . .	1 400
<i>Mucor mucedo</i> . . . . .	590

### Методика бактериологического исследования

Берут из разных мест специальным щупом по 1 г масла—всего 10 г. Тщательно разбалтывают в 10 см<sup>3</sup> теплой (40—45°) стерильной воды. Для определения общего количества микробов из приготовленной таким образом эмульсии и ее разведений берут определенное количество и засевают в расплавленный и остуженный сахарный агар (подробности приготовления разведений, посевов, а также методики непосредственного подсчета см. в отделе «Молоко»).

При желании определить отдельные виды из полученных изолированных колоний выделяют чистые культуры для дальнейшего изучения по обычным правилам. Полученное количество колоний при посеве определенного количества того или иного разведения основной эмульсии пересчитывается на 1 г масла.

Исследование на плесени и дрожжи производится посевом различных разведений на сахарный агар с последующим подсчетом и определением различных видов плесеней (рекомендуется пользоваться «Определителем грибов» Янчевского).

Для элективного выращивания дрожжей рекомендуется прибавление к твердым питательным средам 1% винной кислоты.

Для выделения и количественного учета плесеней рекомендуется, пользуясь их сравнительной устойчивостью, прогревать эмульсию перед посевом 5 минут при 65—70°. Для накопления жирорасщепляющих микробов (кокки, молочнокислые микробы и главным образом флуоресцирующие виды) Löhnis рекомендует засеивать исследуемое масло в среду следующего состава:

Азотнокислый калий . . . . .	0,1
Хлористый калий . . . . .	0,1
$K_2HPO_4$ . . . . .	0,5
Вода . . . . .	100,0
Свиное сало (свежее или бутирин или тристеарин и т. д.) . . . . .	0,5

Поверхность среды должна быть возможно большей.

После пребывания при 37° в течение 24 часов делается пересев на свежую среду и тогда высев на чашки. Eikmann для дифференцировки колоний жирорасщепляющих микроорганизмов применяет следующий метод: на поверхность засеянного агара он наливает тонкий слой стерилизованного бычьего сала и затем по застывании сверху наливает опять агар. Благодаря образованию при расщеплении жира мылов колонии жирорасщепляющих микробов окружены непрозрачной зоной.

### Обнаружение патогенных микробов

В общем применяют все же те способы, как и при исследовании молока, только предварительно делают вышеописанным образом эмульсию.

Для нахождения *B. typhi* Ditthorn разработан специальный метод. Несколько петель с поверхности и глубины масла засеваются непосредственно на чашки со средой Дригальского или Эндо. Одновременно 10—20 г масла разжижаются при 37° и смешиваются с 60 см<sup>3</sup> стерилизованной желчи в разделительной воронке долгим встряхиванием. Затем по отстаиванию жира желчь выливается в колбу, а остаток жира вновь обрабатывается желчью, которая в свою очередь сливается в колбу. Зараженная желчь ставится в термостат на 7—15 дней, после чего делают высевы на цветные среды на чашках. Иногда высев дает положительные результаты скоро, через 1—2 дня, но иногда культура вырастает лишь через 15 дней.

Кроме этого хорошего метода обогащения возможно получение хороших результатов на среде Ficker и Hoffmann следующим образом: готовят два раствора:

I. Вода стерильная . . . . .	80,0	II. Вода стерильная . . . . .	20,0
Нутроза . . . . .	10,0	Кофеин . . . . .	5,0

Оба раствора сливаются вместе, и все полученное доливается к 250 г масла, находящегося в растопленном состоянии в легко подогреваемой колбе. К смеси добавляют 20 см<sup>3</sup> 0,1% свежеприготовленного раствора Kristallviolett Höchst и ставят в термостат при 37°. Через 12 часов высев на Эндо.

### Исследование на *B. tbc*

Микроскопическое исследование масла на *B. tbc* встречает еще большие затруднения, чем исследование молока, так как в масле чаще, чем в молоке, находят кислотоупорные сапрофиты (*Gras*-, *Thimotheebazillen* и др.).

Техника исследования в общем одинакова с таковой при исследовании молока.

Rosh производит микроскопическое исследование следующим образом: 2,0—4,0 масла нагреваются в пробирке с водой при 50°, пока масло не растопится, после чего пробирка затыкается пробкой, сильно встряхивается и ставится дном вверх в теплую воду; когда весь жир всплывет кверху, пробирку помещают в холодную воду и по застывании его открывают пробку, выливают и центрифугируют жидкость. Из осадка готовят препараты, исследуемые после обезжиривания эфиром обычным образом.

Для заражения свинок Obermüller рекомендует следующий способ: масло растопляется при 40°, выливается в нагретые центрифужные пробирки и центрифугируется 10 минут при 3 000—4 000 оборотах в минуту. Через 10 минут пробирки нагреваются до 40° и опять центрифугируются 10 минут. По окончании центрифугирования жир сливается, оставшаяся молочная сыворотка вновь нагревается до 40° и центрифугируется 1 минуту, после чего сливаются остатки жира. Полученную не содержащую жира сыворотку инъцируют интраперитонеально морским свинкам.

Удаление жира имеет тот смысл, что инъекция жиросодержащего материала может вести к ошибкам.

Проба на фекальное загрязнение масла производится аналогично таковой при исследовании молока. Нормы содержания не установлены. По аналогии с молоком надо считать, что *col*-титр 0,01 г является показателем либо приготовления масла из загрязненного молока, либо наличия размножения *B. coli* в уже готовом масле при благоприятных для этого условиях.

## Обнаружение *B. anthracis*

Для обнаружения бацил и спор *B. anthracis* исследуемое масло растворяется в подогретой воде, центрифугируется в теплом виде, и осадком засевают среды и заражают животных. По данным Гинзбурга («Гигиена и эпидемиология», № 6—7, 1934) *B. anthracis* в масле не размножаются, спор не образуют и довольно быстро погибают.

В виде уже образовавшихся спор *B. anthracis* может сохраняться в масле год и более.

## Сыр

Микробиология сыров настолько сложна и в естественном созревании их участвуют столько микроорганизмов, что описать в кратких словах нормальную микрофлору сыра невозможно.

Количество бактерий в сыре бывает чрезвычайно различным—от нескольких тысяч до нескольких миллиардов в 1 г.

Для характеристики бактериальной флоры в количественном отношении в различных сырах привожу следующую таблицу, составленную Макриновым по данным разных авторов (стр. 184).

Вопрос о значении того или иного содержания микроорганизмов в различных сырах различного возраста для санитарной оценки сыра не разработан, и поэтому количественный учет применяется лишь при специальных заданиях.

Сорт сыра	Количество бактерий в 1 г сыра			Автор
	молодого	среднего	старого	
Швейцарский мягкий	—	5 600 000	—	Адамец
Эментальский . . . . .	—	5 800 000	—	»
Твердый . . . . .	2 300 000	—	—	Фрейденрайх
» . . . . .	—	600 000 600 000	—	»
Шведский твердый . . . . .	—	354 000 000	—	Троили-Петерсон
Канадский . . . . .	635 000 000	—	—	Гаррисон и Конпельгеддер
» . . . . .	—	—	1 400	Гаррисон

Основной микрофлорой в сырах являются *Streptococcus lactis* и виды типа *B. casei* и *B. bulgaricus*. Помимо этого ряд бактерий, в том числе и анаэробных и плесеней, составляет так называемую побочную микрофлору, от состава которой в значительной степени зависит тот или иной вкус, запах и пр.

Наблюдается: 1) вспучивание при развитии *B. coli*, *B. lactis aerogenes*, *B. anulyobacter*, 2) горький вкус от *Micrococcus casei amar.* и *Torula amara*, 3) гнилостный запах от гнилостных бактерий, 4) пятна и ненормальная окраска при развитии пигментообразующих и окрашенных микроорганизмов как бактериальной, так и грибковой природы. Далее в сыр могут попадать и развиваться в нем патогенные бактерии.

О длительности сохранения жизнеспособности бактерий в сыре дает представление следующая таблица:

Бактерии	Длительность существования (в днях)
<i>B. tbc</i> . . . . .	До 40
<i>B. typhi</i> . . . . .	» 14
<i>B. dysenteriae</i> . . . . .	» 9
<i>V. cholerae asiatic.</i> . . . .	» 1

При заболеваниях после употребления сыров часто находят бактерии группы *Salmonella*, что заставляет при исследовании на патогенных микробов учитывать возможность наличия и этих микробов. Newin в 1921 г. обнаружил в одной пробе сыра токсин *B. botulinus* (исследование см. стр. 226).

В отношении содержания патогенных микробов более опасны молодые, мягкие сыры; твердые, выдержанные сыры в этом отношении почти никакой опасности не представляют.

### Методика исследования сыра

Берут специальным щупом из разных мест по 1 г сыра, всего до 10 г. Взятую пробу растирают с физиологическим раствором и битым стеклом в ступке, затем встряхивают в Schüttelapparat 15—20 минут. Из полученной эмульсии готовят препараты, посеvy и заражают животных для исследования обычным образом (см. исследование масла).

При определении количества микробов делают посев ряда разведений и результаты перечисляют на 1 г сыра.

Исследования бактериальной причины пороков производятся, как указано было для исследования молока.

Наличие *B. coli* является ненормальным, может повести к изменению свойств сыра и является показателем загрязнений и ненормального хода процесса его приготовления. Поэтому желательно определение *coli*-титра (*B. coli* обязательно должен точно идентифицироваться). Следует думать, что наличие *B. coli* в количестве меньшем, чем 0,01 г сыра, является уже отрицательным признаком.

При обследовании бактериологической природы порока сыра следует заражать здоровый сыр, чтобы получить естественные условия для образования порока (в крайнем случае можно готовить среды, основой которых является данный сыр). См. также исследование молока стр. 158.

## Брынза

Брынза, являющаяся высокопитательным продуктом, получаемым из овечьего молока, может служить источником пищевых отравлений и бруцелозной инфекции овечьего типа, типа наиболее вирулентного и вызывающего наиболее тяжелые заболевания у людей.

В ряде мест, в частности на Северном Кавказе, пищевые заболевания, вызываемые брынзой, принадлежат к нередким явлениям в летнее время.

Попытки, произведенные под нашим руководством Фельдман и Спектор, найти причину брынзовых заболеваний не увенчались успехом, но при работе в этом направлении получен ряд фактов, до известной степени характеризующих ядовитое начало.

Инкубационный период, достигающий иногда 1—1½ часа, говорит об интоксикационном характере заболевания. Следовательно в брынзе имеется уже готовое ядовитое начало.

Введение брынзы, вызвавшей отравление, свинкам, мышам, кошкам, собакам, курам подкожно, внутрибрюшинно и путем скармливания не дало никакого эффекта.

В то же время ничтожное количество брынзы от того же куска (20,0—50,0) вызвало у двух людей (per os) типичную картину заболевания, идентичную таковой в случаях естественного отравления.

При бактериологическом исследовании обнаруживались *B. casei* и разные микробы группы молочнокислых.

По данным Корецкой и Спектор в свежих, только что приготовленных брынзах имеется наряду с молочнокислыми много *B. coli*; по мере созревания количество кишечных палочек уменьшается и наконец они могут совершенно исчезнуть (30—60 дней).

Таким образом можно сделать вывод, что пищевые заболевания, вызываемые брынзой, являются интоксикациями, ядовитым началом, специфичным для человека и безвредным для свинок, мышей, собак и кошек. Происхождение и природа его остаются невыясненными.

В отношении сохраняемости и следовательно возможности инфицирования *Brucella* в брынзе работа Корецкой и Спектор выяснила

важное обстоятельство, что для сохранения *Brucella* в брынзе играет роль не столько срок хранения, сколько степень кислотности: чем скорее повышается кислотность и чем интенсивнее идет нарастание кислотности как в отношении скорости, так и абсолютного количества, тем скорее отмирают *Brucella*.

*Brucella* теряют жизнеспособность при кислотности в 200° по Thörner, поэтому брынза с меньшей кислотностью из мест с наличием бруцеллоза должна считаться опасной и выдерживаться до достижения кислотности в 200°.

Исследование брынзы на бруцеллез рекомендуется производить биопробой на свинках.

Свинки предварительно испытываются на реакцию Райта. Заражение производится подкожно раствором брынзы, причем во избежание некрозов от большой концентрации соли 1 г брынзы растирается в 7 см<sup>3</sup> воды (на физиол. растворе) и впрыскивается 1 г в 3—4 места под кожу живота.

Через месяц после заражения, если животное не погибнет ранее, делают реакцию Райта, убивают и производят посевы из органов и крови.

Посев производят на печеночный агар pH 6,8 с генцианвиолетом 1 : 200 000, посевы выдерживают до 20 дней. Выделенные культуры, микроскопически соответствующие *Brucella*, идентифицируются реакцией аглютинации.

### Молочнокислые продукты

Молочнокислые продукты разделяются на продукты, при образовании которых преобладает молочнокислое брожение (лактобациллин, сметана, творог), и продукты с преобладанием спиртового брожения (кефир, кумыс, мацун, лебен, ягурт и пр.).

Многие народные способы приготовления молочнокислых продуктов еще недостаточно обследованы в отношении их микробиологии. В санитарном отношении (передача патогенных микробов) указанные продукты, можно сказать, не представляют никакой опасности, так как благодаря большому содержанию в них кислоты специфические бактерицидные свойства некоторых микробов (*B. bulgaricus*—Белонковский, Калинин и Меерович) ведут к тому, что патогенные бактерии, если они и присутствуют в молоке, идущем на приготовление молочнокислых продуктов, погибают. Исключением является туберкулезная палочка, хорошо переносящая кислоту.

Исследования Криницкой, произведенные в нашей лаборатории, показывают возможность длительного (45-дневного) сохранения жизнеспособности *B. paratyphi*, *B. Schottmüller*, *B. Breslau* и *B. Gärtner* несмотря на кислотность, достигающую 132°. Но такая сохраняемость имеет место при скисании молока «самоквасом».

Сделанные наблюдения указывают, что базарные кисломолочные продукты могут служить источником инфекции.

При заквашивании чистыми культурами Молзавода указанные микроорганизмы гибли в течение первых суток.

Возможно выживаемость микробов в «самоквасе» объясняется более медленным нарастанием кислотности, благодаря чему был

возможен естественный отбор особей, резистентных к кислотности среды.

В случае надобности исследования молочнокислых продуктов на стойкие патогенные микробы таковое производится теми же приемами, как и при молоке, после тщательного перемешивания пробы.

В случае необходимости выделения из таких продуктов молочнокислых микробов прибегают к помощи накопительных культур, для чего каплей молочного продукта заражают пробирку стерильного молока, через 24 часа вновь пересевают на свежую среду; образующаяся при этом кислота постепенно убивает почти все сопутствующие микроорганизмы кроме истинных молочнокислых микробов, выносящих большое количество кислоты (например *B. bulgaricus*—до 2—3%). Через несколько пассажей делают высев на сахарный агар и выделяют чистые культуры.

Для отличия среди выросших колоний молочнокислых микробов можно употреблять меловой агар (см. исследование молока).

Для улучшения роста всех видов молочнокислых микробов Омелянский рекомендует агар Kohendy.

Приготовление агара Kohendy: 1 л молока кипятят 5 минут, добавляют 1,5 см<sup>3</sup> соляной кислоты, фильтруют через холст. Полученную сыворотку слегка подщелачивают и на 1 л добавляют 300 см<sup>3</sup> воды, 3 г желатины, 15 г пептона и 20 г агара-агара. Смесь прогревают в автоклаве, фильтруют и стерилизуют.

Для накопления *B. bulgaricus* рекомендуется ставить накопительные посевы при 45°, так как микроб при этой температуре хорошо развивается.

При исследовании чистоты молочнокислых продуктов исследуют мазки и устанавливают присутствие или отсутствие микроорганизмов, морфологически отличных от микроорганизмов, вызывающих образование этого продукта нормально.

Чаще всего из посторонних микроорганизмов к кислому молоку находят большое количество дрожжей, *Oidium*, так как они хорошо переносят большое содержание кислоты.

Для выделения молочнокислых дрожжей делается накопительная культура. К 100 см<sup>3</sup> молока добавляют 2 см<sup>3</sup> 3% раствора перекиси водорода, ставят при 37°, время от времени исследуют мазки. По появлению дрожжевых клеток делают пересев на сахарный агар или среду Kohendy для получения изолированных колоний и выделения чистых культур.

Микроорганизмы, участвующие в образовании различных молочнокислых продуктов

Простокваша, лактобацillin—продукт скисания молока под влиянием чистых культур *B. bulgaricus* и *B. Leichmann*; последний вводится в закваску в количестве в 4 раза большем, чем *B. bulgaricus*.

Варенец—тот же продукт, приготовленный на топленом молоке.

Сметана и творог—*B. lactis acidi* Leichmann.

К е ф и р—микрофлора точно не изучена; в образовании продукта принимают участие: *B. caucasicum*, *B. lactis*, *B. lactis acidii* Leichmann, *Torula kephir*.

В кефире были находимы разные другие молочнокислые и вызывающие спиртовое брожение микроорганизмы.

К у м ы с—*Torula Kumyss*—микроб типа *B. bulgaricus* (Бачинская), *B. lactis aerogenes*, дрожжи и пр.

Я г у р т и другие продукты содержат почти все без исключения: 1) молочнокислые микробы, 2) дрожжи и 3) пептонизирующие микробы.

### Свойства главных молочнокислых микробов<sup>1</sup>

*B. bulgaricus*. Палочка 5—20  $\mu$  длиной и 1,5—3  $\mu$  шириной, неподвижна, без спор, грамположительная. Иногда видны внутри палочки более интенсивно окрашивающиеся зерна. В старых культурах образуются инволюционные формы в виде колбообразных утолщений.

*B. bulgaricus* на простом агаре не растет; на сахарном или агаре Kohendy растет, образуя небольшие волосатые колонии; напоминающие собой колонии *B. antracis*.

Лучшей средой для культивирования чистых культур является стерильное молоко, которое свертывается от образования кислоты уже через 12—14 часов при 37°. При этом одни расы образуют плотный сгусток, другие—слизистый, тягучий.

Для своего роста *B. bulgaricus* требует температуры в 35—37°, при комнатной температуре она вообще почти не развивается.

Микроб этот образует при росте на молоке большое количество кислоты—до 200—300—400° по Thörner.

Кривая накопления кислоты специфична для истинных молочнокислых микробов.

*B. lactis acidii* Leichmann. Короткая небольшая палочка, часто располагается цепочками.

Иногда отдельные клетки имеют вид кокков. Биполярность окраски. На простом бульоне не растет, на агаре не всегда—в виде очень небольших колоний, на сахарном или агаре Kohendy образует небольшие желтовато-серые с ровным краем тонкозернистые колонии.

Молоко свертывается через 10—12 часов, кислотность доходит до 95—110°.

Сверток плотный, без газа и пептонизации. Наиболее благоприятной температурой является 30°. Желатина не разжижается.

*Bacterium caucasicum*. Палочка 2,3—3  $\mu$  длины и 0,7—0,1  $\mu$  ширины.

Не растет в простых бульоне, агаре и желатине. На сахарном агаре—круглые колонии темножелтого цвета с резко очерченным краем. Молоко свертывает без газообразования и пептонизации, доводит кислотность до 200—300° по Thörner. Оптимум температуры 32—34°.

<sup>1</sup> См. также стр. 141.



Конденсированное молоко, молочный порошок и пр. исследуются аналогично молоку после соответствующего разведения в физиологическом растворе.

По Скородумовой конденсированное молоко в норме может иметь 10 000—100 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>. Только количество более 100 000 микробов делает его подозрительным.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЖЕНСКОГО МОЛОКА

Бактериологическое исследование женского молока обычно преследует цель обнаружения присутствия в нем гноеродных бактерий. При этом употребляют методику, указанную при описании исследования коровьего молока. Для установления природы молока лучше всего пользоваться реакцией связывания комплемента.

## ГЛАВА СЕДЬМАЯ

### ПИЩЕВЫЕ ТОКСИКОИНФЕКЦИИ

Массовые заболевания в связи с принятием пищи со своеобразной клинической картиной (острый гастроэнтерит иногда с резко выраженными явлениями общей интоксикации) давно обращали на себя внимание.

Изучение этиологии их представляет большие трудности, в особенности в связи с последними американскими работами, которые основательно пошатнули казалось ясные и твердые положения в этой области.

Классификация указанных заболеваний по этиологическим факторам представляется в следующем виде:

1. Заболевания от отравления химическими веществами.
2. Заболевания, вызываемые бактериями и их ядовитыми продуктами.
3. Заболевания с неизвестной этиологией.
4. Пищевые идиосинкразии.

Оставляя без подробного рассмотрения группы 1-ю, 3-ю и 4-ю, остановимся на заболеваниях, вызываемых бактериями и их ядами. Они должны быть разделены на заболевания, вызываемые:

- a) паратифозными микробами,
- b) *B. botulinus* и ее токсином,
- c) гнилостными микробами,
- d) стафилококками, стрептококками и их токсинами,
- e) грибами (фузариоз).

Кроме того возможно в ряде случаев пищевых заболеваний неизвестной природы (например отравления брынзой) причиной являются микроорганизмы.

#### Паратифозные бактерии как причина пищевых токсикоинфекций

До недавнего времени заболевания от паратифозных бактерий объяснялись действием яда, вырабатываемого этими микробами, в пер-

вую очередь В. Breslau и В. Gärtner. Следовательно паратифозные пищевые заболевания относились в основном к пищевым интоксикациям.

По Schottmüller и Konrich, Rolly паратифозные микробы выделяют термоустойчивый (Frautmann, Uhlenhuth) токсин. В случае образования его в продуктах употребление последних в пищу и вызывает пищевое отравление.

Термоустойчивость определялась в 30 минут при 85° и 5—10 минут при 100°.

Исходя из этой точки зрения, строилось учение об эпидемиологии и методах диагностики. Последние направлялись в сторону поисков в пищевых продуктах и рвотных массах токсина.

Считалось возможным сохранение в продуктах только токсина без живых бактерий, например в случае сохранения токсина в силу его терморезистентности в вареном или жареном мясе, в котором бактерии могли быть уничтожены термическим воздействием.

В настоящее время вопрос о роли токсинов паратифозных бактерий пересматривается.

Данные, полученные Jordan, Rosenow, Gläser и др., заставляют по новому подойти к пониманию патогенеза пищевых паратифозных заболеваний.

Опыт Dack, Cary и Harmon, Bahr и Dyssegard установили безвредность гретых культур паратифозных палочек, равно как и их фильтратов, для человека даже при употреблении per os доз в 100—340 см<sup>3</sup>.

Расхождения со старыми данными объясняются тем, что по сути дела старые представления не были обоснованы прямыми опытами.

В основном ядовитость фильтратов при подкожном введении животных механически переносилась на человека при введении per os. Dack, Cary, Dyssegard и др. произвели опыты кормления людей фильтратами; результаты их отвергают возможность чистой интоксикации и утверждают инфекцию как причину паратифозных пищевых заболеваний. Не все считают окончательно отвергнутой теорию чистой интоксикации, указывая на возможность образования токсина лишь в пищевых продуктах, а не в искусственной питательной среде, на несовместимость короткого инкубационного периода с инфекционной теорией.

Для окончательного решения вопроса необходимо проделать большее число опытов. Но что касается имеющихся возражений по существу, то работы Verder и Sutton установили отсутствие образования ядовитых для человека per os токсинов при выращивании микроба на драчене с последующим приготовлением фильтрата из экстракта ее, хотя этот же микроб был выделен из драчены, вызвавшей пищевой гастроэнтерит.

В то же время случайный эксперимент с нестерильным фильтратом искусственно зараженной этим микробом драчены дал у человека картину заболевания, идентичную с естественным.

Короткий инкубационный период не может быть возражением. Мы знаем, что микробы в некоторых случаях могут весьма быстро развиваться и вызывать заболевания (холера, газовая гангрена и т. д.). Если учесть возможность возникновения массовых заболеваний лишь при массивном заражении, то короткий инкубационный период не противоречит токсикоинфекционной теории.

Следовательно сейчас в крайнем случае должна быть установка на возможность того и другого типа патогенеза (до окончательного решения вопроса о способе действия паратифозных микробов). Отсюда новые эпидемиологические установки и направления исследований на поиски в пищевых продуктах, рвотных массах и faeces (особенно в первом жидком стуле) соответствующих микробов.

Не всегда удается при пищевых токсикоинфекциях выделить микроб безусловно патогенного характера (B. Breslau, B. Gärtner), зачастую выделенные микробы относятся к группе B. Gläser Voldagsen или Suipestifer, т. е. микробов условно патогенных, кроме того нередко выделяются микробы, вообще не могущие быть точно идентифицированными.

Этиологическая роль выделенных микробов может считаться установленной в случаях:

а) массивного заражения продукта и нахождения идентичного микроба хотя бы у нескольких больных (2—3),

б) наличия в крови у переболевших (через 5—7 дней) агглютининов, склеивающих выделенный из продуктов микроб.

Ввиду важности вопроса о пищевых паратифозных токсикоинфекциях следует хотя бы кратко коснуться источников их в пищевых продуктах. Источниками инфекции могут являться:

1) убойные животные—больные и носители (особенно опасен вынужденный убой),

2) крысы и мыши, часто являющиеся носителями (Verder у 114 крыс 5 раз нашел B. Gärtner и 1 раз B. Brucella),

3) употребление для истребления крыс и мышей в складах пищевых продуктов крысиного или мышиного тифа,

4) больные и носители паратифозных бактерий люди.

## **V. botulinus (бацила колбасного отравления) и ее токсин как причина пищевых токсикоинфекций**

V. butulinus объединяет собою группу (V. botulinus A, B, C и др.) токсигенных сапрофитов.

Прежние взгляды на V. botulinus как токсигенного сапрофита, т. е. микроба, не могущего размножаться и продуцировать токсин внутри организма теплокровных животных и опасного лишь токсинном, развивающимся вне организма, должны быть оставлены.

Токсин очень хорошо развивается при 37°. Meyer, Staria, Dack и др. показали возможность размножения и продуцирования токсина не только при массивном заражении, но и при заражении единичными экземплярами.

О возможности существования не только ботулиновой интоксикации, но и инфекции, иными словами возможности заболевания от продукта, содержащего V. botulinus и не содержащего ее токсина, с достаточной убедительностью свидетельствуют данные Великанова о развитии заболеваний даже на 8—10-й день после употребления зараженной пищи.

До самого последнего времени ботулизм считался редкой болезнью. В таком духе высказывались Rosenau (1923), Jordan (1926), но уже Meyer (1928) на основании работ Bitter и американской комиссии

по ботулизму приходит к заключению, что эта болезнь не так уж редка. До сих пор только описанных в литературе случаев имеется свыше 4 000.

Частота находок *B. botulinus* и ее токсина в мясных продуктах невелика. В Германии на 247 мясных отравлений *B. botulinus* была обнаружена 4 раза (Standfuss).

Возможно, что виною этому несовершенные методы исследования и то обстоятельство, что при употреблении горячих продуктов токсин может ослабеть и дать нетипичное заболевание. Такое заболевание не даст повода заподозрить ботулизм, исследование не будет произведено, и случай пройдет незамеченным.

В Германии 82,4% всех случаев ботулизма приходится на употребление продуктов животного происхождения. В Америке существуют обратные соотношения—64,9% всех отравлений обусловлено употреблением зараженных растительных консервов.

Каким образом происходит заражение разного рода продуктов?

Первые попытки найти *B. botulinus* в природе сделаны van Ergan-  
gem, Kempner и Pollak. Они искали *B. botulinus* в кишечнике различных животных; благодаря неправильному направлению поисков лишь в одном случае обнаружена палочка, близкая к *B. botulinus*.

Работы самого последнего времени (Meyer с сотрудниками, Collet-  
mann, Hell и Peterson, Tanner и Dock, Cooper, Geiger, Zeissler и др.), продолженные на 3 000 проб земли и пищевых веществ, с несомнен-  
ностью установили, что *B. botulinus* есть постоянный обитатель почвы. Ее нельзя найти в любой пробе почвы, но распространение ее велико.

Следующая таблица свидетельствует о частоте ее находок:

Количество проб	Находки <i>B. botulinus</i> в процентах	Страна	Автор
64	7,8	Англия	По Meyer
49	5,5	Дания	
3	60	Бельгия	
10	60	Голландия	
34	23,5	Швейцария	
39	17,9	Сандвичевы о-ва	
52	26,9	Китай	Meyer и Dubovsky » Hallu Peterson Tonner и Dock Bachmann и Haynes Danon и Poyaba Zeissler
634	34	США	
1 638	24	Калифорния	
20	70	»	
70	24	Иллинойс	
146	0,6	»	
62	91,9	»	
200	6	Германия	

Эти работы сразу осветили темный до сего времени вопрос о путях заражений *B. botulinus* пищевых продуктов.

Если она содержится в почве, следовательно она может находиться в воде, на растениях и т. д. Отсюда ясны возможные пути заражения мяса и мясных продуктов.

Кроме того в последнее время *V. botulinus* в единичных случаях была находима в фекасах здоровых и больных людей и животных. По Горовиц-Власовой, Глотовой, Буровой, Фельдман в кишечнике красной рыбы часто (15—20%) можно обнаружить *V. botulinus*.

Заражение мяса *V. botulinus* в действительности имеет место очень часто, но для получения заболевания недостаточно одного присутствия микробов или их спор, а необходимо, чтобы в продуктах развились токсины. Для развития токсина нужны три условия:

1. **Анаэробные условия.** Таковые имеют место в консервах, в жирных мясных продуктах (паштеты) или при наличии симбиоза с некоторыми бактериями, создающими условия для развития *V. botulinus*.

2. **Время.** Образование токсина может происходить довольно быстро. По нашим с Фельдман наблюдениям уже через 1—2 дня в стерильном мясе рыб может образоваться токсин, убивающий мышь. Таким образом старые представления о необходимости продолжительных сроков для образования токсина не могут быть сейчас поддерживаемы.

3. **Подходящая температура.** То же можно сказать и о температуре, благоприятствующей токсинообразованию. Диапазон температуры, при которой возможно токсинообразование, достаточно велик: 15—37°. По Weinberg же минимальной температурой для токсинообразования является 25°.

Если все эти условия налицо, то токсин развивается, и употребление в пищу веществ, его содержащих, влечет за собой отравление с характерной картиной. Здесь следует указать, что недостаточное прогревание консервов может оставить токсин частично неразрушенным, и он дает отравление с нетипичной картиной.

Вследствие повсеместного распространения в природе *V. botulinus* и существования нетоксигенных штаммов (Ogg, Burke и др. и в последнее время Meyer и Gunnison и Hadley, Глотова) факт ее нахождения в продуктах не говорит еще за опасность их употребления в настоящий момент. Поэтому исследование должно иметь в виду главным образом токсины. Но конечно продукты, хотя бы и не содержащие токсина, а лишь споры *V. botulinus*, должны браковаться, так как токсин может в дальнейшем при соответствующих благоприятных условиях образоваться, и не исключена возможность заражения *V. botulinus* с последующим уже в организме развитием токсина.

*V. botulinus* в настоящее время делится на несколько типов: А, В, С. Из них тип А встречается главным образом в девственных, невозделанных почвах, а тип В—в культурных почвах (Meyer).

При исследовании на *V. botulinus* следует обязательно, если только сохранились, исследовать остатки пищевых веществ на содержание токсина. Если их не сохранилось, исследуют содержимое желудка.

При этом следует иметь в виду, что первоначально ядовитые продукты могут к моменту исследования потерять свою ядовитость. Причиной потери токсичности могут быть действие света, нагревание, процесс окисления и вторичное бактериальное загрязнение (Meyer и Dubovsky).

Таким образом лишь положительный результат исследования на токсин является доказательным, отрицательный же результат, равно как и обнаружение и не обнаружение микроба, ни в коей мере не может иметь абсолютно решающего значения для диагноза данного заболевания или эпидемии.

Так называемый рыбный яд, обуславливающий отравления при употреблении главным образом консервированной (соленой, копченой) красной рыбы (сем. осетровых, лосевых), по исследованиям Констансова представляет собой токсин анаэробного спороносного микроорганизма, названного Констансовым *B. ichthyismi*.

Сравнение культур этого микроорганизма с культурами *B. botulinus*, произведенное Констансовым, не дало твердых данных считать его за самостоятельный вид. Весьма возможно, что он является одним из видов группы *B. botulinus* (видимо типа С).

Сейчас нет сомнений в том, что во всяком случае значительное число заболеваний, происшедших от употребления в пищу консервированных рыб, вызвано *B. botulinus* (Соловьев, Златогоров, Ручковский, Горовиц-Власова, Бурова, Глотова, Миллер, Фельдман, Наследышева), но нельзя считать *B. botulinus* единственной причиной «рыбных отравлений». В этом смысле вопрос о «рыбном яде» не может считаться окончательно разрешенным.

Возможно, что «рыбный яд» может являться и продуктом начальной стадии процессов гниения. По Uhlenhut и другие рыбные отравления могут вызываться паратифозными палочками, как и мясные, а по Pernansky и Mandel также и *Proteus vulgaris*.

Для принятия профилактических мер следует знать резистентность спор данного вида, каковая определяется способами, указанными в главе о контроле дезинфекции.

Вообще говоря, стойкость спор *B. botulinus* очень велика. Американский штамм Meyer (взвесь 5—50 миллиардов спор в буферном растворе) выдерживал нагревание до 100° в течение 6 часов и до 150°—в течение 12 минут. Конечно не все штаммы обладают такой резистентностью. Для штаммов типа С время убивания при 105° по Est вариировало от 3 до 75 минут. Свежевыделенные штаммы более резистентны, чем старые лабораторные.

В кислой и щелочной среде и с большим содержанием соли (8%) резистентность спор значительно уменьшается. Споры типа А более резистентны, чем типа В.

### **Гнилостные и другие микробы как причина пищевых токсикоинфекций**

Вопрос о возможности появления желудочно-кишечных заболеваний при употреблении разложившихся пищевых продуктов, вызываемых птомаинами, в свое время много дискутировался; сейчас огромное большинство авторов отрицает энтеротоксичность птомаинов.

На самом деле имеется бесчисленное количество примеров и случаев, когда употребление в пищу продуктов, находящихся в той или иной стадии разложения, не влекло никаких вредных последствий. Например эксхимосы и жители Тибета употребляют в пищу разложившееся мясо, китайцы—яйца, мы употребляем острые сорта

сыра, которые несомненно содержат птомаины, и т. д. Поэтому надо считать один процесс разложения продукта недостаточным для заболевания.

Надо полагать, лишь определенные виды микробов или их ассоциаций могут обусловить пищевое заболевание, но причина здесь лежит видимо в продуктах обмена бактерий, а не птомаинах.

*Proteus vulgaris* по данным ряда авторов может вызывать пищевые токсикоинфекции (Pfuhl, Silberschmidt, Berthlein, Meyer, Соловьев, Ручковский). Источником являлись мясные продукты, рыба (даже копченая и вяленая) и наконец салаты из овощей. Появление заболеваний обычно связано с массивным заражением продукта *Proteus*.

Jordan экспериментами на людях опровергает существующие воззрения о токсичной природе протеусных заболеваний (Hausen и др.) точно так же, как это сделано в отношении паратифозных микробов.

Из других гнилостных микробов указывают на возможную роль *B. perfringens*, *B. cloacae*, *Streptococcus foetidum* и даже *B. coli*, но все эти указания лишены экспериментальных и даже клинико-эпидемиологических точных доказательств, и поэтому вопрос об их этиологической роли должен считаться открытым.

Jordan считает, что по крайней мере часть пищевых отравлений, приписываемых птомаинам, должна быть отнесена за счет токсинов разных микробов типа стафилококкового энтеротоксина.

### **Стафилококки и стрептококки как возбудители пищевых токсикоинфекций**

В старой литературе стафилококк как возбудитель «пищевых отравлений» совершенно игнорируется, хотя Barber еще в (1914 г.) описал отравление молоком, содержащим *Staphylococcus albus*. Barber доказал, что стерильное молоко, зараженное этим стафилококком, через 8½ часов пребывания при температуре 37° становится ядовитым, вызывая клинический симптомокомплекс, идентичный с таким при естественном заболевании. Standfuss считает находки *Staphylococcus* случайными и не играющими роли при «пищевых отравлениях». Однако работы Dack, Gary, Woolpert, Wiggers (1929 г.), Jordan, McBroow (1931 г.) и др. достаточно твердо установили, что *Staphylococcus* может являться причиной пищевых отравлений.

Чаще всего стафилококковые отравления происходят при употреблении в пищу пирожных (в частности с кремом) (Jordan, Dack, Gary, Woolpert, Wiggers, McBurney). Описаны заболевания и от употребления мяса (Owen), молока (Barber, Tanner и Ramsey), сыра (Jordan).

Не всякий *Staphylococcus* может вызвать заболевание, а только образующие энтеротоксин.

Энтеротоксин образуется хорошо лишь в полужидких средах в атмосфере 20% углекислоты (Parker, Bigger, Boland, O'Meara, Dolmann и др.).

Энтеротоксин по Jordan, Woolpert, Dack и др. 1) не дистиллируется, 2) разрушается щелочами, 3) разрушается при нагревании в среде

кислой реакции, 4) экстрагируется эфиром или хлороформом из кислых растворов, 5) термостойчив: ослабевает при кипячении через 20 мин. и разрушается через 1—1½ часа.

Далее энтеротоксин не идентичен веществам, вырабатываемым стафилококком, обуславливающим гемолиз, лейкоцитоллиз, а также некроз и смерть у животных.

Энтеротоксичность стафилококка установлена прямыми опытами на людях.

Следует отметить специфичность энтеротоксина для человека. Только обезьяны, да и то не все и не всегда, обнаружили чувствительность к энтеротоксину. Это обстоятельство чрезвычайно затрудняет практическую работу по отождествлению выделяемых стафилококков с возбудителями отравлений. У нас пока нет простых и надежных способов отличия энтеротоксичных стафилококков от обычных не энтеротоксичных.

Следует иметь в виду, что по данным вышеуказанных авторов энтеротоксичные стафилококки все гемолитичны, но не все гемолитические энтеротоксичны.

Таким образом отсутствие гемолиза позволяет исключить энтеротоксичность стафилококка.

Наличие достаточного количества гемолитического стафилококка при отсутствии других микробов определенно патогенного значения позволяет условно относить отравления за его счет.

Borthwick (Br. J. Exptl. Path., 1933 г.) удалось вызвать гастроэнтерит посредством стафилококкового энтеротоксина у кроликов после нейтрализации желудочного сока и введения 10 см³ фильтрата 10-дневных культур зондом непосредственно в желудок.

Таким образом в стафилококковых заболеваниях пищевого происхождения мы имеем доказанную пищевую интоксикацию. С этим согласуется короткий инкубационный период, иногда до 1½ часов, наблюдавшийся как при естественных, так и при экспериментальных заболеваниях у людей.

В заключение следует указать на существование описаний нескольких вспышек, при которых в продуктах обнаруживался стрептококк (Linden, Turner, Thom, Jordan), но точных доказательств этиологической роли его еще не имеется, а диагноз ставился лишь путем исключения.

## **Об условиях развития массовых токсикоинфекций**

Для возникновения вспышки пищевых токсикоинфекций недостаточно одного наличия в продукте паратифозных микробов, а необходим ряд условий, при которых создается возможность ее возникновения.

Условиями, создающими возможность вспышки, являются все моменты, благоприятствующие размножению микробов (долгий срок хранения, высокая температура), неправомерности технологического процесса, в результате которых случайно попавшие или находящиеся в продукте в небольшом количестве микробы остаются живыми в уже готовом продукте, и наконец ненадлежащий режим приготовления продуктов (например общие столы для сырья и готовой продукции),



создающий условия размножения микробов и возможность вторичной инфекции.

Из приведенного вытекает система предупредительных мероприятий.

I. Устранение первичной зараженности продуктов:

- а) тщательный ветеринарно-санитарный надзор за убойными животными и убоем,
- б) выявление и изоляция от пищевого дела бацилловыделителей,
- в) строжайшая чистота при приготовлении продуктов,
- г) тщательное соблюдение правил личной гигиены,
- д) устранение контакта с грызунами.

II. Устранение условий, создающих возможность вспышек и вторичных заражений, производится путем проведения строго продуманного режима пищевого производства, наблюдения за надлежащими температурой и сроками хранения мясопродуктов, за правильностью проведения технологических процессов обработки пищи. В заключение следует указать, что не маловажное значение имеет (иногда и решающее) состояние организма в целом и кишечника в частности, хотя бы у части членов данного коллектива.

## ГЛАВА ВОСЬМАЯ

### БАКТЕРИОЛОГИЯ ГРУППЫ *COLI-TYPHUS*

Важность представителей этой группы для многих санитарно-бактериологических исследований и интенсивно идущая разработка вопроса о паратифозной группе заставляют меня изложить главнейшие данные подробнее и в особой главе.

Группа *coli-typhus* объединяет в себе большое число видов, обладающих следующими общими признаками.

Морфологически они представляются в виде небольших палочек с закругленными концами, грамтрицательных, обладающих большей частью подвижностью. На агаре все они дают более или менее прозрачные, не образующие пигмента колонии круглой формы, иногда сочные, иногда нежные. Поверхность может быть гладкой или шероховатой (см. дальше—варианты). Все эти морфологические признаки являются общими для всей группы, и поэтому на основании морфологии никакой дифференцировки между отдельными видами провести нельзя. Имеющаяся иногда разница в морфологии штаммов разных видов может при сравнении двух других штаммов тех же видов дать обратные соотношения.

Из биохимических свойств отмечу образование кислоты в средах с глюкозой, отсутствие разжижения желатины и сыворотки, являющееся общим для всей группы.

Дифференцировка отдельных видов этой группы может быть произведена лишь при помощи изучения целого ряда биохимических свойств и реакции агглютинации. Для дифференцировки следует изучить отношение выделенной культуры к молоку, различным углеводам, образование ею индола,  $H_2S$ , образование слизистого вала вокруг колоний, образование вариантов и т. д.

Для идентификации *B. coli* можно, как указано в главе об исследовании воды, употреблять сокращенный пестрый ряд.

Полный ряд является необходимым для дифференцировки различных видов группы паратифа.

На основании биохимических, серологических свойств, различной патогенности, а также клинической картины болезни всех микробов этой группы можно разбить следующим образом:

I. *B. typhi*.

II. Группа паратифозных палочек—обширная группа с множеством разнообразных видов (подробности см. ниже).

III. *B. dysenteriae* Schiga-Kruse.

IV. Группа *B. dysenteriae* Flexner, Hiss-Russel, Schmitz—Штуцера и др., называемая некоторыми группой псевдодизентерийных микробов на том основании, что они не продуцируют экзотоксина, как это имеет место у *B. Schiga-Kruse*.

V. *B. coli*.

VI. Группа *B. paracoli*.

Таким образом мы имеем три вида микробов: *B. typhi*, *B. dysenteriae* и *B. coli*, обладающих определенными биохимическими признаками.

К каждому из данных видов примыкает обширная группа парамикробов с разными отклонениями в биохимических и прочих свойствах. Из всех этих микробов мы могли бы построить лестницу по степени их биохимической активности.

На верху этой лестницы располагаются *B. coli* и в самом низу—*B. Schiga-Kruse* и *B. typhi*; промежуток занимает парамикробами. Бросается в глаза уменьшение биохимической активности при нарастании патогенности. Основные виды обладают общеизвестными определенными признаками. Из всех описанных групп парамикробов наибольший интерес представляет для санитарной бактериологии группа паратифозных палочек, к классификации которой мы и перейдем (классификация группы *B. coli* по Bergey помещена в конце книги).

### Вопрос о классификации бактерий паратифозной группы

Классификация паратифозной группы до сих пор окончательно не разработана. Количество отдельных описанных видов велико. В Америке Bergey насчитывает 21 вид, в Германии Uhlenhuth—12, во Франции Lomry и Gillet—15, Kaufmann—32.

Номенклатура различных видов паратифозных бактерий запутана до чрезвычайности. Штуцер приводит следующий пример такой запутанности: *B. Erzindjan* Neukirch, *B. paratyphi*, *B. Weil* и Saxl, *B. paratyphi* C Andrewes и Sheffield, *B. paratyphi* N Ивашенцева, *B. septicopyaemicus* Кулеша, *B. suipestifer* Voldagsen—различные названия одного и того же вида паратифозных бактерий.

В настоящее время главнейшими классификациями являются: американская (Bergey), делящая паратифозных бактерий на основании их отношения к углеводам на 21 вид; французская (Lomry и Gillet), делящая паратифозных бактерий на основании их биохимических и серологических свойств на следующие группы:

1. *B. paratyphi* A (para A). 2. *B. paratyphi* B Schöttmüller (para B<sub>1</sub>).
3. *B. aertrycke* (para B<sub>2</sub>) (*B. Breslau*). 4. *B. Gärtner* (para B<sub>3</sub>).

Две последние группы включают ряд отдельных видов микробов.

Наиболее обоснованными и разработанными представляются нам классификации немецких авторов (Trautmann, Uhlenhuth, Fischer, Reiner-Müller, Bitter, Weigmann и др.).

В настоящее время конкурируют две классификации: Uhlenhuth и кильской школы. В общем обе школы сходятся в установлении следующих групп паратифозных бактерий:

1. *B. paratyphi* A. 2. *B. paratyphi* B. 3. *B. paratyphi* (*Suipestifer*, *B. paratyphi* N и пр. 4. *B. Gärtner*.

Разница заключается лишь в том, что кильская школа делит подгруппу *B. paratyphi* B на два вида: *B. paratyphi* B Schöttmüller и *B. enteritidis* Breslau, в то время как Uhlenhuth считает *B. Breslau* лишь вариантом первого вида.

Предложенные кильской школой среды для дифференцировки этих видов, анализ их рецепторного аппарата и полученные при помощи их результаты позволяют склониться к точке зрения кильской школы. Причину непостоянства (Uhlenhuth) приводимых кильской школой признаков отличия *B. paratyphi* B Schöttmüller от *B. Breslau* можно объяснить вариабельностью паратифозных бактерий. Только свежевыделенные штаммы обладают указанной разницей биохимических, морфологических и серологических свойств. Работа с лабораторными культурами может не дать результатов, полученных со свежими штаммами (Штупер).

Вопрос о классификации в настоящее время не может считаться окончательно разрешенным и нуждается в дальнейшей проработке, материал для которой в настоящее время собирается многими исследователями.

К вопросу о классификации примыкает вопрос о патогенных свойствах бактерий паратифозной группы. В то время как одни во главе с Uhlenhuth делят паратифозные бактерии на: 1) патогенных только для человека (*B. paratyphi* A и *B. paratyphi* B Schöttmüller), 2) бипатогенных (*B. Gärtner*), 3) патогенных только для животных или непатогенных вовсе, другие (Max Müller) считают, что все бактерии паратифозной группы обладают бипатогенностью, т. е. все типы паратифозных палочек могут встречаться у животных и у человека, но различаются по картине вызванной ими болезни: 1) вызывающие тифоподобную картину (*B. paratyphi* A Schöttmüller, *B. paratyphi* A) и 2) вызывающие энтериты (*B. Gärtner* и др.).

Наконец схема Bitter делит паратифозные бактерии на: 1) патогенные только для человека и не встречающиеся у животных—*B. paratyphi* A, *B. paratyphi* B Schöttmüller; 2) вызывающие энтериты у человека и у животных, например *B. Gärtner*; 3) вызывающие эпизоотии у животных, в огромном большинстве случаев непатогенные для человека, например *B. abortus*.

Жизнь заставила Uhlenhuth несколько изменить свои взгляды в том отношении, что он признал возможность для микробов его третьей группы иногда вызывать заболевания у людей.

Наиболее приемлемой в настоящее время видимо является схема Bitter с некоторыми поправками и оговорками.

Итак, резюмируя, мы можем группу паратифозных палочек разделить следующим образом:

B. paratyphi A	}	вызывают тифоподобную картину; патогенны почти исключительно для человека
B. » B Schöttmüller		
B. » Breslau (Flugge—Kaen)	}	вызывают энтериты у человека и у животных, чаще у животных, чем у людей
Группа B. Gärtner		
» B. suipestifer	}	являются нормальными обитателями кишечника ряда животных
	}	вызывают эпизоотии у животных, для человека патогенны редко

Группы B. Gärtner и B. suipestifer заключают в себе следующие виды:

#### 1. Группа B. Gärtner

(Kälberparatyphus Karsten)

- a) B. Gärtner
- б) B. paratyphi N<sub>2</sub>
- в) B. Danysz
- г) B. paratyphi vituli.

#### 2. Группа suipestifer (Solomon-Smith)

a) B. Gläser-Voldagsen. Близок по биохимическим свойствам к B. typhi abdom.

б) B. suipestifer. Сопутствующий микроб при чуме свиней, может вызвать заболевание у людей (Standfuss).

в) B. abortus equi

г) B. abortus ovis

д) B. paratyphi N<sub>1</sub>

е) B. psittacosis

ж) B. typhi murium (Standfuss относит его к группе B. Breslau)

з) Hogcholera.

Принадлежность тех или иных видов к той или иной группе еще недостаточно точно установлена и обоснована, и в будущем возможны всякие перемещения.

Для дифференцировки отдельных видов мы применяем изучение их биохимических свойств при помощи пестрого ряда следующего состава:

Бульон (на индолобразование)

Желатина (на разжижение)

Lactus Molke (на кислото- и щелочеобразование)

Молоко с лакмусом (свертывание, пептонизация и кислотообразование)  
 Среда Барзикова с глюкозой (кислото- и газообразование с бродильной трубкой)  
 » » с лактозой  
 Hetsch с маннитом  
 Среда нутроза-сахара } (кислотообразование, желательство и газообра-  
 » нутроза-мальтоза } зование).  
 Агар с Plumbum aceticum (образование  $H_2S$ )

Lacmus Molke и молоко с лакмусом с успехом могут быть заменены одной средой Минкевича (молоко, разбавленное вдвое водой, подкрашенное лакмусом, на котором можно хорошо видеть и щелочеобразование и свертывание молока и пептонизацию).

Нутроза в средах Барзикова и др. может быть заменена сывороткой (среды Hiss).

Для дифференцировки *B. paratyphi* B Schöttmüller и *B. Breslau* к пестрому ряду прибавляют следующие среды для установления дифференциальных признаков кильской школы:

Глицерин-фуксин-бульон по Stern  
 Среда Bitte с рамнозой  
 Рафиноза-агар по Müller  
 Обыкновенный 2% агар на лошадином мясе (pH=7,6),  
 разлитый в чашках толщиной в 3—5 мм  
 Косая желатина

Дифференцировку микробов группы *coli-typhus* по их биохимическим свойствам см. таблицу в конце книги. При засеве пестрых рядов их выдерживают в термостате 3 дня, после чего отмечают результаты.

При приготовлении сред и учете изменений надо руководствоваться следующими указаниями:

1. Бульон для установления индоловой реакции готовят по Niesser и Pringsheim:

Вода . . . . .	1 л
Пептон . . . . .	10,0
Мясной экстракт . . . . .	5,0
Нормальный раствор соды сверх нейтральной по лакмусу точки . . . . .	7 см*

К полученному бульону добавляют 0,2 трипсина и 10 см<sup>3</sup> хлороформа и ставят на 24 часа при 35—40°, повторно встряхивая.

Фильтруют, разводят 1:3 физиологическим раствором. Разливают по 3 см<sup>3</sup> пробирки и стерилизуют.

Производство реакции на индол. Из 2—3-дневной бульонной культуры микроба делают эфирную вытяжку по Berteloth, как указано в главе о воде.

2. Желатина обычная, можно ставить в термостат с последующим остуживанием в холодной воде.

3. Lacmus Molke.

4. Агар с Plumbum aceticum готовится добавлением к обыкновенному агару 1% уксуснокислого свинца. Сеять уколом.

Можно эту среду заменить средой Wilson-Blair (см. главу о воде). *B. typhi* и *B. paratyphi* дают на ней черные колонии в отличие от *B. paratyphi* A, оставляющего среду неизменной.

5. Глицерин-фуксин-бульон по Stern готовится следующим образом: к 100 см<sup>3</sup> бульона добавляют 5 капель профильтрованного насыщенного спиртового раствора фуксина, 2 см<sup>3</sup> свежеприготовленного 10% раствора кристаллического *Natrium sulfurosum* в воде и 1,0 глицерина.

Среду разливают по пробиркам и стерилизуют при 100° в течение 3 дней по 20 минут. В холодном состоянии среда должна иметь золотисто-желтый цвет, иногда незначительное красное окрашивание. При хранении защищенной от света среда годна 8—10 дней.

*B. Breslau* вызывает образование интенсивно пурпуровой окраски среды, а микробы группы паратифа *Gläser-Voldagsen* вовсе не меняют цвета этой среды.

6. Среда Bitter с рамнозой

Вода . . . . .	1 000,0
<i>D'natrium phosphat.</i> . . . .	0,5
<i>Ammonium sulfat.</i> . . . .	1,0
<i>Natrium citrat.</i> (трехосновной) . . . .	2,0
Хлористый натрий . . . . .	0,5
Пептон . . . . .	0,05
Рамноза ( <i>Merk</i> ) . . . . .	5,0

Кипятить до растворения, фильтровать, разливать, стерилизовать 3 дня по 20 минут.

15-часовые культуры испытываются на кислотность добавлением 2 капель индикатора *Methylroth* (0,5% алкогольный раствор). Если  $pH < 5,0$ , то получается красное окрашивание, если выше—желтое. *B. Breslau* дает красное окрашивание, *B. paratyphi B*—желтое.

7. Рафиноза-агар по Müller—обыкновенный агар с добавлением 1% рафинозы.

*B. paratyphi B* образует через несколько дней роста дочерние колонии на краю и на поверхности основных.

8. Посев на косую желатину ставится при 22°, и наблюдается образование и сползание слизи (*B. paratyphi B Schöttmüller*) или отсутствие таковых (*B. Breslau*).

9. Посев на агар в чашках производится для определения валовообразования и выдерживается 24 часа при 37° и затем два дня при комнатной температуре.

*B. paratyphi B Schöttmüller* дает, а *B. Breslau* не дает образования слизистых валов по периферии колоний.

Кроме изучения биохимических свойств для отличия *B. paratyphi B* и *B. Breslau* может быть произведен опыт кормления мышей.

20-часовая агаровая культура взвешивается в водопроводной воде. Завесью пропитываются кусочки хлеба и скормливаются 2—3 белым мышам. В случае патогенности выделенной культуры для мышей последние гибнут при явлениях септицемии. Из их крови и органов выделяется тот же микроб. Следует иметь в виду, что опыт с мышами не всегда достоверен.

Большое значение для дифференцировки микробов группы *colityphus* вообще и паратифа в частности имеет серологическое исследование.

До последнего времени такое исследование затруднялось сильно выраженной у большинства штаммов и сывороток способностью к групповой агглютинации. Сплошь и рядом приходилось прибегать к реакции Castellani для разграничения двух видов. Но и реакция Castellani не всегда оказывалась на высоте положения. Иной раз только долгое, кропотливое, всестороннее изучение морфологических, биохимических, серологических свойств и патогенности позволяло идентифицировать исследуемую культуру. Работы последнего времени (Andrewes и Aoki) показали выход из такого положения и наметили пути к упрощению серологического анализа микробов группы *coli-typhus* (работа велась главным образом в пределах группы паратифа).

Работы указанных авторов показали, что культуры микробов изучаемой группы могут состоять из специфических и неспецифических форм.

Если выделить чисто специфическую форму, то при помощи ее можно приготовить специфическую сыворотку, агглютинирующую лишь гомологичные культуры и не агглютинирующую вовсе (или очень слабо) все остальные.

Получение специфической сыворотки производится следующим образом.

Культура, содержащая специфические и неспецифические формы, разбрасывается на чашки; полученные колонии, как показывает опыт, состоят—одни из специфических, другие из неспецифических форм.

Для нахождения первых агглютинируют колонии одну за другой при помощи ориентирующей пробы гетерогенной сывороткой. Колонии, не агглютинирующиеся этой сывороткой, состоят из специфических форм. Из такой неагглютинирующейся колонии выделяют чистую культуру и иммунизируют ею кролика. Полученной сывороткой агглютинируют ряд колоний на чашке, как это было только что описано. Колонии, хорошо агглютинирующиеся полученной сывороткой и не агглютинирующиеся гетерогенными сыворотками, содержат абсолютно специфические формы. При помощи выделенных из таких колоний чистых культур готовят чисто специфическую сыворотку для данного вида микробов.

Результаты этих работ имеют громадное значение, так как указывают способы приготовления сывороток, лишенных групповых агглютининов. Получение таких сывороток значительно упростит серологический анализ и дифференцировку микробов группы *coli-typhus* и в особенности ее паратифозных видов. К сожалению, практически этот метод еще недостаточно разработан и не налажено производство специфических сывороток для повседневной работы.

При отсутствии специфических сывороток приходится вести серологический анализ следующим образом.

Исследуемая культура агглютинируется сыворотками: 1) тифозной, 2) паратифозной А, 3) паратифозной В, 4) Gärtner, 5) *B. suipestifer*, 6) Schiga-Kruse, 7) поливалентной, дизентерийной Flexner и др.

По установлении отношения к данным сывороткам культура испытывается далее сыворотками отдельных видов, входящих в каждую группу, обычным способом или в случае надобности при помощи реакции Castellani.

Само собой разумеется, что в ряде случаев число сывороток значительно сокращается. Например при исследовании культур, вызывающих тифоподобные заболевания, аглютинация производится лишь с первыми тремя сыворотками. При идентификации микробов группы паратифа (мясных отравлений) аглютинация производится сыворотками paratyphi B Gärtner, B. suipestifer. В случаях, подозрительных на дизентерию, — дизентерийными Gärtner и paratyphi B.

Нас интересует главным образом дифференцировка паратифозной группы.

B. paratyphi A кроме реакции аглютинации можно легко ограничить при помощи пестрого ряда (Lacmus Molke—образование сероводорода).

Если микроб по своим биохимическим свойствам принадлежит к группе B. paratyphi B в широком смысле, то приступают к серологическому анализу для установления его вида.

Серологическое исследование в таком случае является единственным способом, позволяющим разграничить отдельные виды.

Итак, изучаемую культуру мы аглютинируем сывороткой B. paratyphi B Schöttmüller, B. Gärtner, B. suipestifer.

Если микроб аглютинируется сывороткой Gärtner, то его испытывают далее при помощи реакции Castelani с сыворотками B. Gärtner, B. Danysz, B. paratyphi N<sub>2</sub> и пр.

Если культура аглютинируется сывороткой B. Schöttmüller, но слабо, то аглютинировать дальше с сыворотками микробов группы B. suipestifer.

Если аглютинируется хорошо, то биохимически дифференцируют между B. Breslau и B. Schöttmüller (см. таблицу в конце книги).

При организованном в настоящее время в Германии плановом изучении бактерий паратифозной группы употребляют следующие сыворотки:

1. B. paratyphi B.
2. B. enteritidis Breslau.
3. B. enteritidis Gärtner.
4. B. suipestifer.
5. B. paratyphi mucosus.
6. B. paratyphi abort. equi.
7. B. paratyphi abort. ovis.
8. B. noduli faciens Langer.
9. B. paratyphi gallinarum.

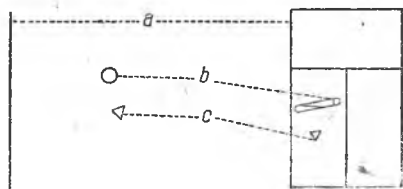


Рис. 19. Расположение источника света (окно a), пробирки (b) и глаза наблюдателя (c) при осмотре реакции аглютинации.

При производстве реакции аглютинации с микробами паратифозной группы чтение результатов следует производить через 30 минут стояния при 20°, через 2 часа стояния при 37°, через 24 часа при 20°. Чтение результатов производить без употребления лупы или аглютиноскопа. Образовавшиеся хлопья невооруженным глазом очень хорошо видны, если смотреть на наклоненную пробирку снизу (получается боковое освещение, как при исследовании в темном поле зрения).

Kaufmann рекомендует устанавливать групповую принадлежность определяемого микроба, аглютинируя гретую 1 час при 100°



культуру четырьмя иммунными сыворотками: A. Schottmüller, suispestifer и Gärtner.

Дело в том, что антигенный аппарат бактерий сложен и у паратифозных микробов состоит из термостабильных О-агглютиногенов и термолабильных Н-агглютиногенов специфического и неспецифического. Многие микробы, принадлежащие разным видам, могут иметь общие как термолабильные, так и термостабильные агглютиногены. За счет этих общих неспецифических агглютиногенов происходит групповая агглютинация, и частота ее сплошь и рядом делает невозможным серологический диагноз без сложных манипуляций по Castellani, далеко не всегда помогающих разобраться. Особенно затрудняют серологический диагноз неспецифические термолабильные Н-агглютиногены, некоторые из которых являются общими чуть ли не для всех паратифозных микробов.

Неспецифические термостабильные О-агглютиногены являются общими лишь для определенных групп микробов. Так как практически большей частью достаточно определить групповую принадлежность, то, применяя гретые культуры и тем исключая неспецифическую агглютинацию за счет термолабильных агглютиногенов, мы имеем возможность точного определения групповой принадлежности. Это предложение Kaufmann является ценным и его следует реализовать в практике. Точное определение вида по Kaufmann делается при помощи сложного анализа целым рядом сывороток, когда учитывается весь антигенный аппарат.

Эта часть предложений Kaufmann сложна и возбуждает большие сомнения в возможности таким путем определять виды ввиду непостоянства их специфических рецепторов.

Для иллюстрации изложенного привожу схему Kaufmann (см. табл. на стр. 206).

Для дополнительной дифференцировки Kaufmann предлагает использовать различное отношение микробов паратифозной группы к углеводам и дает следующую таблицу (стр. 207).

### Производство реакции Castellani

**Пример.** Выделенная культура агглютинируются тифозной и гертнеровской агглютинирующими сыворотками.

2,5 см<sup>3</sup> тифозной сыворотки, разведенной 1 : 50, смывают одну агаровую культуру исследуемого микроба.

Полученную густую взвесь ставят в термостат на 2 часа (не больше) и далее в холодильник—на 18 часов. После этого центрифугируют до полной прозрачности и отсасывают.

С такой насыщенной сывороткой проделывают реакцию агглютинации с *B. typhi*; если реакция получится отрицательная, то агглютинация с тифозной сывороткой была не групповая, а специфическая, и мы определяем данный микроб как *B. typhi*.

Если реакция будет положительной, то агглютинация с тифозной сывороткой была групповая, и данный микроб является *B. Gärtner*.

Так как мы до сих пор не имеем точного установления патогенности того или иного вида группы паратифа В (в широком смысле)

для человека, то при оценке полученных результатов в отношении санитарной опасности надо соблюдать большую осторожность.

№ группы	№ вида	Виды или типы	О-агглютиногены	Н-агглютиногены	
				специфич.	неспецифич.
A	1	A . . . . .	I—II	a	—
	2	Senftenberg—Newcastle . .	I—III	gs	—
B	3	S hottmüller . . . . .	IV—V	b	1, 2
	4	Breslau . . . . .		i	1, 2, 3
	4	Binns . . . . .		—	—
	5	Stanley . . . . .	IV	d	1, 2
	6	Reading . . . . .		eh	1, 4, 5
	7	Derby . . . . .		fg	—
	8	Abortus equi . . . . .		enx	—
	9	» ovis . . . . .		—	1, 4
C	10	Brandenburg . . . . .	VI—VII	enl	—
	11	Suipestifer Amerika . . . .		c	—
	11	» Kunzendorf . . . . .		—	1, 3, 4, 5
	12	Glässer . . . . .		c	—
	12	Voldagsen . . . . .		—	—
	13	Orient . . . . .		c	1, 4, 5
	14	Thompson . . . . .		k	—
	14	Berlin . . . . .		—	1, 3, 4, 5
	15	Virchow . . . . .		r	1, 2, 3
	16	Oranienburg . . . . .		mt	—
	17	Postdam . . . . .	VI—VIII	enlv	—
	18	Newport . . . . .		eh	1, 3, 4, 5
	19	Morbificans bovis . . . . .		r	—
G	20	Gartner Iena . . . . .	IX	} gom	—
	20	» Ratin . . . . .			—
	21	» Dublin—Kiel . . . . .		gp	—
	22	» Rostock . . . . .		gpu	—
	23	» Moskau . . . . .		gcq	—
	24	Typhus . . . . .		d	—
	25	Sandai . . . . .		a	1, 4, 5
	26	Dar es Salaam . . . . .		enlw	—
	27	Fullorum . . . . .		—	—
L	28	London . . . . .	X—III	lv	1, 4

### Изменчивость

При производстве исследования для выделения и идентификации микробов группы coli-typhus следует всегда иметь в виду существование в этой группе широко распространенных явлений изменчивости и в частности диссоциации. Под явлениями диссоциации мы понимаем расщепление основной культуры на разновидности с отличными морфологическими и биологическими свойствами, т. е. образование так называемых вариантов.

Явления диссоциации сильно затрудняют и классификацию и диагностику микробов изучаемой нами группы: мы на завтра можем обнаружить значительное изменение морфологических и серологических свойств микроба по сравнению с его свойствами сегодня.

Варианты, получающиеся при диссоциации, были обнаружены и детально изучены Bärthlein, Arkwright и Goyle, Weil и Felix, Hadley, Златогоровым, Штудером и др.

# Т а б л и ц а

культуральных свойств тифозно-паратифозной группы по Kaufmann

	Газообразование в глюкозе	Манинит	Арабиноза	Дульцит	Инозит	Рамноза Bitter	Рамноза Lutze	Среда Stern	H <sub>2</sub> S	Газообразование
A . . . . .	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Soltenberg . . . . .	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—
Schottmüller . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Freslau-Binus . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Stanlay . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Reading . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Derby . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Abortus equi . . . . .	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
» ovis . . . . .	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Suipestifer Amerika . . . . .	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+
» Kunzendorf . . . . .	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+
Gläser Voldagsen . . . . .	—	—	+	+	—	—	+	—	—	+
Orient . . . . .	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+
Berlin . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Vir hov . . . . .	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—
Oranienburg . . . . .	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—
Newport . . . . .	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—
Gartner Iena . . . . .	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
» Kill . . . . .	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
» Moskau . . . . .	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
Pullorum . . . . .	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—
Sendai . . . . .	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Существуют два основных варианта: гладкий, или S-Form, и шероховатый, или R-Form (Askwright).

Причины и механизм появления вариантов в настоящее время точно не известны.

Некоторые авторы объясняют их появление явлениями мутации, аналогичной таковой в царстве высших животных и растений; другие считают варианты проявлением цикличности развития бактерий и их полового процесса (Almquist и Ennderlein); наконец третьи считают с действием бактериофагов, но все эти объяснения недостаточно обоснованы и неполно объясняют все наблюдаемые факты.

Отщепление вариантов (микробная диссоциация) сопровождается не только изменением внешней формы колоний, но и изменениями биохимических свойств.

По Hadley можно следующим образом характеризовать свойства различных вариантов:

	S-тип	R-тип
Колонии на агаре	Гладкие, ровные, правильные, выпуклые, непрозрачные, сочные	Шероховатые, морщинистые, неправильные, плоские, сухие, прозрачные
Рост в бульоне	Муть	Хлопьевидный
Взвесь на физиологическом растворе	Гомогенная	Хлопьевидная
Образование вторичных колоний	Часто	Редко

	S-тип	R-тип
Морфология	Нормальная	Укороченные формы
Подвижность	Есть	Нет
Капсулы	»	»
Вирулентность или токсичность	»	»
Биохимическая активн.	Более активен, чем R	
Антигенные свойства	Содержит S- и R-антиген	Содержит только R-антиген
Отн. шение к фагоцитозу	Стоек	Неустойчив
Отношен. к бактериофагу	Чувствителен	Стоек
Откуда выделяются	От остробольных	От хроников, выздоравливающих носителей
Устойчивость к вредным воздействиям	Менее устойчив, чем R	Более устойчив, чем S

Эта таблица представляет собой лишь общую дифференцировочную сводку. Отдельные микробы могут иметь исключения, и свойства их типов могут не совпадать с приведенными. Между крайними типами S и R может быть ряд переходных форм (O-Form и др.).

Как видно из этой сравнительной характеристики, разница между двумя вариантами может быть весьма значительной.

Не имея здесь возможности вдаваться в подробности учения о вариантах, я укажу еще лишь на то, что серологические свойства вариантов резко различны:

- S-тип содержит S- и R-агглютиногены
- R-тип содержит только R-агглютиногены
- S-тип—агглютиногены термолабильны (разрушаются при нагревании до 100° 20 минут).
- R-тип—термостабильны (сохраняются при нагревании до 100° 20 минут).
- S-тип—агглютинины термостабильны (сохраняются при нагревании до 70° 20 минут).
- R-тип—агглютинины термолабильны (разрушаются при нагревании до 70° 20 минут).

Разным строением антигенного аппарата различных вариантов можно объяснить появление неагглютинирующихся штаммов, сравнительно плохое действие гретых вакцин и пр.

Во всяком случае с существованием вариантов надо считаться. Широкое практическое применение учения вариантов—еще вопрос будущего, хотя уже сейчас при приготовлении вакцин рекомендуется употреблять лишь S-формы микробов.

Следует иметь в виду непостоянство биохимических и серологических свойств микробов. Культуры с измененными признаками сильно затрудняют диагностику.

Вопроса о детальной характеристике группы *B. dysenteriae* мы не касаемся, так как она имеет меньшее значение для санитарной бактериологии, но в общем ход исследования аналогичен таковому при исследовании на паратиф. Идентификация производится по таблице в конце книги.

Вопрос о *B. coli* com. и *B. paracoli* разобран, поскольку это нужно для санитарной бактериологии, в главе о воде.

## Резистентность паратифозных микробов

Нагревание в течение 30 минут при 60° убивает, но так как в глубине больших кусков (10 × 15 см) мяса за этот период даже при ки-

пичении температуры не достигает 60°, то и кипячение в течение 30 минут нельзя считать надежным методом обезвреживания больших кусков мяса за этот срок. Паратифозные микробы хорошо переносят замораживание, даже комбинирующееся с кислой реакцией (Wallage).

К большой концентрации соли паратифозные микробы очень устойчивы.

В мясе с 10—19% поваренной соли по Weichel и Serkowsky паратифозные микробы остаются жизнеспособными до 25—80 дней, задержка же развития происходила уже при 8—9%. По данным Микробиологического института НКПроса и Наследышевой в тузлуках (рассолы для рыбы) паратифозные микробы погибают в сроки от 1½ до 4 месяцев. По еще неопубликованным данным Криницкой, полученным в моей лаборатории, В. Gärtner и В. Breslau выживали при кислотности до 132° в течение 45 дней (в молоке при температуре 6—8°).

## ГЛАВА ДЕВЯТАЯ

### МЯСО, МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ И КОНСЕРВЫ

#### БАКТЕРИЙНАЯ ФЛОРА МЯСА

Бактерий, находимых в мясе и могущих вызвать те или иные заболевания у людей, можно разбить на три группы:

1. С а п р о ф и т ы, обычно находимые в мясе, при обычном малом содержании не оказывают влияния на здоровье потребителей мяса, но при сильном размножении, наблюдающемся при соответствующих условиях, могут вызвать заболевания.

К таковым можно отнести обычные бактерии гниения, некоторые бактерии мясных отравлений.

Причиной таких заболеваний, которые, кстати сказать, обычно протекают очень легко, видимо являются продукты жизнедеятельности массы этих микробов.

2. П а т о г е н н ы е б а к т е р и и о б щ и е д л я ч е л о в е к а и ж и в о т н ы х. Сюда относятся бактерии многих мясных отравлений, *B. anthracis*, в редких случаях—*B. tuberculosis*, *Bru-cella*.

3. П а т о г е н н ы е б а к т е р и и ч е л о в е к а, случайно попавшие на мясо (или мясные продукты) или непосредственно от больных и носителей или посредством загрязнений воды и т. п. (*B. cholerae asiaticae*, *B. typhi*, *B. dysenteriae*, *B. diptheriae* и т. д.).

М я с о з д о р о в ы х ж и в о т н ы х (а также и рыб—Bischoff) вообще говоря стерильно (Chilles, Grunt, Messner). Заселение его микробами может начаться уже во время агонии, когда бактерии могут через рану проникнуть в кровяное русло и с кровью и лимфой разнестись по всему организму. Затем, особенно при достаточно высокой температуре, происходит дальнейшее загрязнение мяса бактериями благодаря размножению. Загрязнение мяса из кишечника и с поверхности с последующим прорастанием микробов внутрь также является фактом, увеличивающим загрязнение мяса.

При пользовании особыми методами накопления удается установить присутствие бактерий в мясе здоровых животных уже в первые же часы после убоя.

Conradi применял следующий метод обогащения: кусок мяса опускал для стерилизации поверхности в масло при температуре в  $200^{\circ}$ , затем мясо выдерживалось в течение 24 часов при температуре в  $37^{\circ}$  и из внутренних частей его делались высевы. Из 162 проб, исследованных им, 72 оказались нестерильными. Чаще всего нестерильными оказывались печень—в 60%, легкие—в 80%. Из 59 проб мышц нестерильными оказались 18 (30%); 11 проб селезенки все за исключением одной были стерильными. При этом Conradi нашел следующие бактерии: *B. coli*, *B. lactis aerogenes*, *Streptococcus acidilactis*, *B. mesentericus*, *B. fluorescens*, *Diplococcus pneumoniae*, *B. suipestifer*, различные анаэробные виды (главным образом маслянокислые).

Bierotte и Machid установили присутствие аэробных микроорганизмов в 26 и анаэробных в 6 случаях из 54 проб.

Норг в первые часы после убоя нашел микробы в 4,65% исследованных проб, не применяя методов обогащения, а с последними—в 11,63%.

Доказательством постмортального внедрения бактерий служит наблюдение Амако, который при исследовании проб различных порций мяса и органов с бойни очень часто (30—100%) находил бактерии, а при исследовании мяса сразу после стерильного убивания собаки, свинки и кроликов обнаружил полную стерильность мяса. Rugge и Kiessig также при стерильном убивании животных не находили бактерий ни в мышцах ни в органах за исключением печени и легких.

Burn, инъецируя разных микробов в плевральную полость убитых морских свинок и кроликов, изучал постмортальное распространение микробов по различным органам. Данные его экспериментов указывают на внедрение *B. perfringens* и *B. coli* в ткани в течение 5—24 часов при условии хранения трупов при  $25^{\circ}$ .

Ряд других микробов (*Streptococcus viridans nonhemolyticus*, *Pneumococcus*, *B. diphtheriae*, *Proteus* и др. *B. pyocyaneus*) оказался неблагодарным способностью при этих условиях внедряться в ткани.

Ряд экспериментов с несомненностью установил возможность внедрения бактерий с поверхности в глубину куска мяса. При этом микробы группы паратифа при обычной комнатной температуре в 1—2 дня могут проникнуть на глубину 14 см, в то время как сапрофиты—лишь на 4—5 см (Meyer). Обязательным условием для быстрого проникновения является повреждение фасций. Куски мяса с целыми фасциями и слегка подсушенные с поверхности оставались в глубине стерильными по истечении 48 часов с момента заражения их поверхности микробами группы паратифа (Zwick и Wichel Grunt). При заражении куска мяса средней величины с одного конца через 48 часов вся поверхность представляется зараженной (Trautmann).

Присутствие в первые часы после убоя патогенных бактерий внутри куска мяса или в костном мозгу на основании вышеприведенных данных можно считать результатом прижизненной инфекции (Standfuss и Schnauder).

Как выше было указано, дальнейшее загрязнение мяса зависит еще от размножения бактерий и особенно сильно проявляется при

более высокой температуре. Но даже хранение в холодильнике при 2° не останавливает размножения всех бактерий. Имеется группа бактерий, способных размножаться даже при этой температуре (бактерии холодильников). Размножение бактерий этой группы может быть очень сильным и повести к полной порче мяса: сначала ослизняется поверхность, потом подвергается порче весь слой мяса. Поэтому хранить мясо при этой температуре более 3—4 недель не следует. Замороженное ниже 0° мясо может храниться без срока.

Оттаянное после замораживания мясо очень легко подвергается гниению, и поэтому при хранении, оттаивании и доставке такого мяса к потребителю должны приниматься всевозможные меры против его загрязнения (Hallert, Konrich и др.). Бактерийная флора мяса может быть чрезвычайно разнообразной и зависит от присутствия тех или иных бактерий в местах убоя и хранения мяса.

Из отдельных бактериальных видов, находимых в мясе, следует указать на бактерии гниения, из которых чаще всего мы находим анаэробный вид *B. putrificus* (Bienstock), из аэробных видов чаще всего встречается *Proteus vulgaris*.

Были найдены в мясе еще *B. prodigiosus*, дающие покраснение мяса, и различного рода светящиеся бактерии.

*Proteus vulgaris* может служить причиной очень тяжелых энтеритов, особенно у детей. По статистике, собранной Standfuss, он является возбудителем мясных отравлений в 3,6% всех случаев. Таким образом этот микроорганизм следует даже перенести из группы сапрофитов и обычных микробов мяса в группу патогенных и считать даже самый факт его присутствия опасным признаком, ибо по наблюдениям Standfuss здоровое, неиспорченное мясо *Proteus* не содержит.

### Патогенные бактерии в мясе

Из патогенных микробов, общих для человека и животных, в мясе могут находиться бактерии группы мясного отравления, *B. anthracis*, *B. tuberculosis*, *Brucella*, *B. botulinus*.

Некоторые патогенные лишь для человека бактерии, попадая на мясо, могут довольно долго сохраняться в нем. На жареном мясе холерный вибрион сохраняется до 8 дней (Uffelmann). В свежем мясе рыб вибрион живет до 2 дней (Friedrich, Uffelmann). Вопрос о нахождении и сохраняемости холерного вибриона в мясе рыб принимает актуальное значение в странах, где рыба употребляется в некоторых случаях сырой (Япония). *B. paratyphi* может сохраняться в свежем мясе 3 дня, а в стерилизованном мясе рыб до 180 дней. По наблюдениям Tonzig туберкулезные палочки сохраняются в колбасе до 5 месяцев. Также может сохраниться на мясе тифозная палочка и др., хотя точных наблюдений в этом отношении не имеется.

### Бактерии группы «мясных отравлений»

В эту группу некоторые относят всех микробов, вызывающих при употреблении зараженного ими мяса картину отравления,

включая сюда микробов группы *B. paratyphus*, *Proteus*, *B. botulinus* и пр. (Standfuss).

Я считаю, что для большей систематичности всех этих микробов следует рассматривать отдельно. Под бактериями группы «мясных отравлений» далее будут подразумеваться лишь бактерии группы паратифа.

Бактерии этой группы были находимы в мясе, мясных продуктах, а также в организме заболевших от употребления зараженных продуктов. О частоте заболеваний, вызываемых бактериями этой группы, дают представление нижеследующие статистические данные по Германии. По данным Standfuss, составленным на основании работ Ostertag, Kuppelmayr, Meyer, Wiemann и Brüggemann, Klimmeck, в Германии описано 466 эпидемий мясных отравлений с 26 780 заболевшими и 262 смертными случаями.

О различных видах бактерий, являющихся причиной мясных отравлений, дает представление следующая таблица, составленная по материалам Standfuss, Kuppelmayr, Wiemann и Brüggemann и Klimmeck.

Виды бактерий, встречаемых при мясных отравлениях

Род животного	<i>B. paratyphus</i> B Schött-müller	<i>B. paratyphus</i> B	<i>B. Gärtner</i>	<i>B. paratyphus</i> Breslau	<i>B. paratyphus</i> Gärtner	Бацила рожи свиней	<i>B. suispestifer</i> , подобный <i>B. Volldagen</i>	Парагриппозообн. и неа-глютиниру. паратиф. бактер.	<i>Proteus</i>	<i>B. coli</i>	<i>Botulinus</i>	Количество исследований	
												общее	в %
Лошадь . . .	—	48	6	2	—	—	—	2	—	—	—	58	29,1
Бык . . .	1	42	29	—	1	—	1	2	3	—	—	79	31,7
Теленок . . .	—	7	13	—	—	—	—	1	—	1	—	22	11,1
Свинья . . .	—	23	6	1	—	1	—	3	1	—	1	36	18,1
Овца и коза	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	4	2,0
Неизвестного рода . . .	—	25	12	1	—	—	—	2	5	—	3	48	—
Всего . .	1	147	68	4	1	1	1	10	9	1	4	317	—
В % . . .	0,4	59,6	27,5	1,6	0,4	0,4	0,4	4,0	3,6	0,4	1,6	—	—

Данные таблицы представляют сводку результатов работ ряда авторов, большей частью сделанных в то время, когда методика дифференцировки между *B. paratyphi* B, Breslau и Gärtner не была точно разработана.

Поэтому таблица эта представляет ценность лишь в отношении учета ею частоты заболеваний, вызываемых бактериями группы паратифа и остальных.



Разграничение же *B. paratyphi* B Schöttmüller нельзя считать соответствующим действительности. Дифференцировка *B. Breslau* разработана лишь в самое позднейшее время. Поэтому бактерии, отнесенные к *B. paratyphi* B, в значительной части могут являться *B. Breslau*. Точно так же точная диагностика *B. Gärtner* возможна лишь при наличии хороших агглютинирующих сывороток. К сожалению большинство лабораторий не имеет сывороток достаточно хорошего качества. Следствием этого является неточность диагностики *B. Gärtner*. Видимо группы *B. Breslau* и *B. Gärtner* в данной таблице следовало бы увеличить за счет группы *B. paratyphi* B.

Итак, чаще всего вызывают мясные отравления бактерии группы *B. paratyphi* B Gärtner.

Источником последних являются главным образом больные животные. Картина болезни животных при этом может быть самой различной. В настоящее время мы обладаем статистическим материалом, разработанным в этом отношении (Kuppelmaug, Wiemann и Brüggemann и Klimmeck).

Если суммировать их данные, то мы получим следующую картину:

Количество случаев мясных отравлений от мяса различного происхождения

		Всего	Лошадное мясо	Бычье мясо	Телятина	Свинина	Баранина	Козье мясо	Мясо неиз- вестного жи- вотного
Случаи мясных отравле- ний от употребления мя- са больных животных	Заболевания жел.- каш. тракта . . .	32	16	13	1	1	—	—	1
	Заболевания в свя- зи с родами . . .	14	—	14	—	—	—	—	1
	Заболевания типа септицемии и пи- емии . . . . .	15	3	10	2	—	—	—	—
	Разные заболевания	49	23	12	4	7	—	—	3
	Всего	110	42	49	7	8	—	—	4
Случаи мясных отравле- ний от употребления мя- са здоровых живо- тных при б. ктер. исслед. ваши отрицательн. результат	Животное здорово	98	21	18	2	16	—	1	40
	Испорченное мясо	13	2	4	1	2	—	—	4
	При исследовании отрицательный результат . . . . .	45	2	3	—	4	—	—	6
	Мясо павших жи- вотных . . . . .	2	2	—	—	—	—	—	—
	Всего	128	27	25	3	23	—	2	50
Итого . . . . .		238	69	74	10	31	—	2	54

Из материалов таблицы видно, что половина всех случаев мясных отравлений вызывается употреблением в пищу мяса больных животных. И немного меньше половины заболеваний ложится на случаи употребления мяса здоровых животных. Испорченное мясо сравнительно редко вызывает заболевания. Кроме того в 15 случаях при бактериологическом исследовании мяса бактерии группы «мясных отравлений» вовсе не были обнаружены; тем не менее после употребления такого мяса наблюдались заболевания.

Таким образом и здоровье убойного животного и даже отрицательный результат бактериологического исследования не гарантируют нас от заражения. Отрицательные результаты в таких случаях объясняются случайным отсутствием в данной пробе мяса соответствующих бактерий.

Приведенные данные побуждают рекомендовать взятие проб не из одного места, а из разных мест.

Все вышеуказанное с достаточной убедительностью свидетельствует о возможности передачи через мясо бактерий «мясного отравления», происходящих от больного животного или от носителя или случайно попавших на мясо.

Но далее возникает вопрос: имеем ли мы возможность, выделив из мяса или мясных продуктов микроб этой группы (или даже из организма заболевшего человека), с точностью сказать, что именно этот вид микроорганизмов является этиологическим фактором при данном заболевании?

Такое заключение мы можем сделать при находке *B. anthracis*, *B. tuberculosis*, так как эти последние микроорганизмы дают характерное по клинической картине заболевание, и кроме того и микробы эти имеют вполне определенную физиономию.

К сожалению при выделении какого-либо представителя группы бактерий «мясных отравлений» мы не можем с уверенностью поставить в этиологическую связь микроб и заболевание. Причинами такой неуверенности являются, с одной стороны, нетипичная картина заболевания, с другой—существование в природе повсюду колоссального количества разновидностей паратифозных бактерий. Среди этих бактерий мы имеем бипатогенных, патогенных для человека, патогенных для животных и наконец сапрофитов. Учение о методах дифференцировки всех этих видов еще недостаточно разработано, чтобы их можно было с полной уверенностью применять для целей диагностики.

Несмотря на это в ряде случаев бактериологическое исследование дает нам ценные указания на источник и этиологическую причину данной эпидемии. Следует лишь не ограничиваться одним исследованием продуктов, а сопоставлять находки в них с находками у заболевших. Чтобы дать представление о распространении в природе паратифозных бактерий, следует привести нижеследующую таблицу (см. стр. 215).

Это только единичные цифровые данные; на самом деле находок было значительно больше. Таким образом мы видим, что при паратифах животные—носители соответствующих микробов—могут играть большую роль в распространении бактерий «мясных отравлений»: Этот взгляд подтверждается данными из которых видно, что почти

40% всех «мясных отравлений» вызваны употреблением мяса здоровых животных.

Вид найденных бактерий	Материал обследования	Число обследов. случаев	Процент положит. находок	Фамилия исследователя
Suipestifer . . . . .	Кишечник свиньи	23	3,5	Grabert
» . . . . .	» . . . . .	600	8,4	Uhlenhuth
Paratyphus B . . . . .	Faeces свиньи	700	1	Schmidt
Неаглютинирующая паратифозная бакт. . . . .	» . . . . .	700	4	»
Паратифозная бакт. . . . .	Кишечник свиньи	100	20	Schöne
» . . . . .	» быка	16	6	Eccert
» . . . . .	» овцы	300	4	Andrejew
» . . . . .	» лошади	100	5	Huber
» . . . . .	» собаки	30	3,3	Brüggemann
» . . . . .	Мясо здоров. жив.	162	2,5	Conradi
Enteritidis . . . . .	Мясо	153	16	Bongartz
» . . . . .	»	1059	0,3	Sobernheim
Итого . . . . .	—	3943	—	

Паратифозные бактерии были обнаруживаемы очень часто в мясном фарше, колбасе, воде, льде, почве и пр. (Uhlenhuth, Hübener, Conradi и Rommeler, Komma, Mayer, Buhmann, Glaser, Sobernheim и Schern, Zweifel, Ciurea, Forster, Gaethgens).

Кроме того паратифозные бактерии очень часто вызывают самые разнообразные заболевания животных, и мясо их может служить источником заражения.

Я не останавливаюсь подробнее на этом вопросе за недостатком места и так как детали этого вопроса скорее относятся к деятельности ветеринарного надзора, чем санитарного врача.

Широкое распространение паратифозных бактерий в природе стоит в противоречии с сравнительно редкими случаями заболеваний, вызываемых ими. Это находит себе объяснение в вышеприведенном существовании групп микробов с различным характером патогенности.

Для полноты обзора эпидемиологии мясных отравлений следует упомянуть о влиянии сезона года на частоту заболеваний.

По Meyer (рис. 20) максимум числа эпидемий, заболевших, смертных случаев приходится на летние месяцы, главным образом на август.

Такую сезонность следует объяснить сильным размножением бактерий, какого бы происхождения они ни были, при высокой летней температуре и сезонными условиями, ослабляющими макроорганизмы.

Мясной фарш представляет собой особо благоприятную среду для патогенных микробов. Большинство всех мясных отравлений приходится на случаи употребления в пищу мясного фарша и его продуктов. По Kuppelmaug 68,8%, по Wiemann и Brüggemann 93,61% всех мясных отравлений обусловлено зараженным мясным фаршем и колбасой. Из различных родов мясо лошадиное и бычье

чаще остальных бывает причиной мясных отравлений (Standfuss). Интересно, что свинина в Германии сравнительно редко бывает причиной мясных отравлений несмотря на широкое ее употребление.

Для лабораторного и санитарного работника, имеющего дело с исследованиями мяса, большой интерес представляет процент

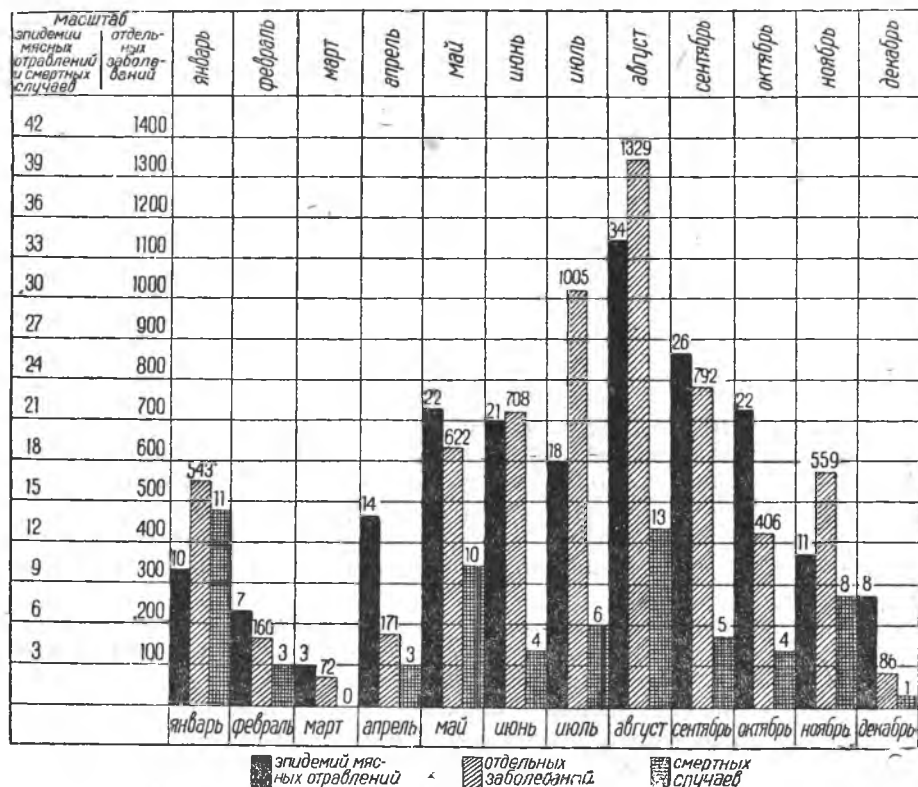


Рис. 20. Распределение мясных отравлений по месяцам (по Standfuss).

положительных результатов при текущих исследованиях на паратифозные и патогенные микроорганизмы. В Германии получены следующие результаты.

1. В Потсдаме (1922—1924) при исследовании 5 815 проб обнаружено:

Всего выделено 127 культур: процент положительных находок следовательно равен 2,2.

Из них примерно половина приходится на случаи, когда соответствующие микробы найдены в большом количестве, и половина, — когда они находились лишь в виде единичных колоний в отдельных пробах. Далее почти половина всех штаммов не могла быть с точностью определена из-за отсутствия аглютинируемости или из-за неопределенных биохимических свойств.

2. В. Stetin-Züllchow (1915—1927). По Standfuss процент положительных результатов был значительно выше—около 25. В 25%.

из них соответствующие бактерии находились лишь в виде единичных колоний. Число точно неидентифицированных штаммов здесь также приблизительно составляет половину всего количества выделенных культур.

Бактерии	В большом количестве	Единичные колонии в отдельных пробах
Paratyphi B S. höttmüller . . . . .	1	1
Preslau . . . . .	23	19
Cartner . . . . .	26	8
Остальные . . . . .	1	3
Паратифзные неагглютинирующиеся . . . . .	6	15
Переходные формы . . . . .	10	14
Всего . . . . .	67	60

Все вышеуказанное заставляет считать бактерий мясных отравлений наиболее частыми обитателями мяса из числа патогенных бактерий.

Если эти бактерии оказываются принадлежащими к группе бактерий, патогенных для человека, употребление зараженного ими мяса может вызвать появление мясных отравлений.

Благоприятствующим моментом к появлению последних является усиленное размножение бактерий в летнее время, причем даже непатогенные для человека разновидности могут дать заболевание (Uhlenhuth).

Трудным моментом в вопросе о предупреждении подобного рода заболевания является то обстоятельство, что зараженное мясо может иметь свежий и здоровый вид.

Только бактериологическое исследование открывает присутствие микробов «мясных отравлений».

В случаях необходимости дифференцировать прижизненную или постмортальную инфекцию бактериями группы паратифа хорошую службу может сослужить определение агглютининов в мышечном соке.

Наличие агглютининов при паратифозных заболеваниях в сыворотке крови животных является общепризнанным фактом.

Nobéle, Cesari, Müller, Klinger, Douma и др. установили, что при наличии агглютининов в сыворотке крови таковые имеются также и в мышечном соке. Титр агглютининов в мышечном соке обычно в 50—100 раз меньше, чем в сыворотке крови.

Таким образом установление наличия агглютининов в мышечном соке будет говорить за прижизненную инфекцию со сроком болезни не менее 5—7 дней (за меньший срок агглютинины не могли бы образоваться). Величина диагностического титра по данным различных авторов представляется в следующем виде:

Nobéle . . . . .	1 : 10—20
Cesari . . . . .	1 : 100—200
и для нормального сска . . . . .	1 : 10—50
Müller . . . . .	1 : 80
Klinger . . . . .	1 : 5

Ввиду малой разработанности вопроса пока следует руководствоваться наиболее достоверным титром 1 : 80 по Müller.

## С и б и р с к а я   я з в а

В общем кишечная форма сибирской язвы, происходящая от потребления зараженных продуктов, в городах встречается редко видимо в силу сравнительной легкости определения заболевания животного сибирской язвой при убое.

Находка сибиреязвенных палочек позволяет конечно без всяких сомнений ставить заболевание в связь с употреблением зараженного мяса. Следует указать, что в первые часы после убоя палочки сибирской язвы существуют в мясе в неспорноносном состоянии и потому легко могут быть убиты, но если время упущено и с момента убоя прошло 10—12 часов, то часть бацилл успевает уже спороваться и обеззараживание уже представляет большие затруднения, так как для этого требуется длительное прогревание при 100°, в то время как для убивания вегетативных форм достаточно температуры в 80°.

## Т у б е р к у л е з

Мясо туберкулезных животных представляет опасность лишь при сильной общей инфекции; в таких случаях инфекционным может быть не только мясо, но и кровь, употребляемая например при производстве колбасы (Peuch, Steinheil, Hostner, Westenhöfer, Titze, Bollinger и др.).

При локализованном туберкулезе мясо мало заразительно и содержит обычно лишь единичные туберкулезные палочки (Banz, Kastner, Galtier, Perroncito, Mc. Fadyan, Van der Sluys, Bongert, Müller, Ishiwara).

Ввиду сравнительной легкости диагноза туберкулеза при убое скота туберкулезное мясо редко попадает на рынок; поэтому случаи заражения туберкулезом при употреблении мяса больных животных очень редки.

Частично это обуславливается еще трудностью заражения человека бычьим типом туберкулезной палочки, хотя возможность эта, вообще говоря, по работам последнего времени существует.

Большую опасность в смысле туберкулезных палочек от больных животных представляет молоко (см. соответствующую главу).

Заражение может произойти и через мясо здоровых животных, зараженных пылью с туберкулезными палочками.

Путь заражения от мяса может быть двоякий: либо через кишечник либо через кожу (например бородавки туберкулезного характера у мясников).

## Б р у ц е л л о з

Микробы *Brucella* могут находиться в мясе больных животных, но практически опасность существует главным образом для людей, имеющих непосредственное соприкосновение с мясным сырьем (особенно опасно мясное сырье мелкого рогатого скота и свиней). Потребители уже готовой мясной пищи редко заражаются в силу,

во-первых, малой насыщенности мяса вирусом, во-вторых, в силу погибания микробов при термической кулинарной обработке.

## Ботулизм

Микробы ботулизма главным образом попадают в мясные продукты при загрязнении их частицами почвы. Свежее мясо животных и рыб не служит источником инфекции или интоксикации *B. botulinus* (подробности см. стр. 193).

## Стрептококки и стафилококки

Обычно стрептококки и стафилококки принадлежат к нормальной флоре мяса, но если они находятся в большом количестве и притом в почти чистой культуре, присутствие их можно связывать с заболеванием, происшедшим от употребления такого мяса (см. также стр. 195).

## ЗАДАЧИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МЯСА

Исходя из вышеизложенных данных, мы можем при проведении бактериологического анализа мяса и мясных продуктов поставить следующие задачи:

1. Определение общего числа бактерий, имея в виду главным образом степень размножения гнилостных бактерий, при помощи пробы на загниваемость.

2. Нахождение патогенных микробов, неспецифических для мяса, но могущих на нем существовать: *B. cholerae asiaticae*, *B. typhi* и т. д. Такое исследование производится лишь при существовании каких-либо подозрений на возможность заражения мяса означенными микробами. В обычный анализ мяса такие исследования не должны входить и делаются лишь по специальному заданию.

3. Нахождение *B. botulinus*, его токсина и *B. anthracis*.

Это исследование также делается лишь при специальных надобностях, если имеется подозрение на соответствующее заболевание и зараженность продукта, или в тех случаях, когда предпринимается полное общее исследование ввиду необходимости разобраться в случае какого-либо совершенно неясного отравления.

4. Нахождение бактерий группы «мясных отравлений» делается в каждой пробе мяса, в том числе определяется и присутствие *Proteus*.

5. Определение рода белка в тех или иных продуктах производится также при специальных показаниях.

Итак, обычное бактериологическое исследование мяса состоит из пробы на загниваемость и исследования на присутствие бактерий группы «мясных отравлений» и *Proteus vulgaris*.

В целях изучения патогенной флоры продуктов, если средства лаборатории позволяют, желательно исследование на *B. botulinus* и *B. anthracis* производить с каждой пробой (проба на токсин и реакция Ascoli).

## Взятие проб

Так как в мясе патогенные для человека бактерии часто находятся в очень небольшом количестве, рекомендуется не ограничиваться пробой с одного места, а брать по крайней мере два куска мяса из разных мест и, если имеется к тому возможность, исследовать дополнительно еще кусок какого-либо органа. Если проба прислана в лабораторию в виде одного куска, рекомендуется материал для посева брать не из одного места, а из нескольких. Каждая проба должна иметь примерно 500 г веса и не должна быть слишком тонкой (брать куски из наиболее толстых мышц). Рекомендуется добавлять еще пробу костного мозга, так как последний хорошо защищен от случайных внешних загрязнений.

Из присланного куска мяса должны быть сделаны посевы.

Для дифференцировки случайных поверхностных загрязнений бактериями от наличия бактерий в глубине мяса следует делать посевы из глубины и поверхности отдельно.

Для получения материала из глубины поступают следующим образом. Куски мяса, подлежащие обследованию, прижигаются с поверхности либо раскаленным кухонным ножом либо специальным *myocauter* по Müller (см. рис. у Standfuss, стр. 115) или паяльной лампой по Gressel (см. рис. там же). При очень небольших кусках проб (лимфатическая железа) рекомендуется класть их на полминуты в спирт и затем сжигать последний на них. После прижигания при помощи стерильных ножа, пинцета и ножниц вырезают из глубины кусочек пробы и кладут его в стерильную чашку Петри или же сразу им производят посевы на твердые питательные среды, а в заключение разрезают на несколько кусков и бросают последние в жидкую среду для накопления.

Пробы с поверхности берутся также стерильными инструментами обычным способом.

Для большего удобства и быстроты работы употребляют три набора инструментов; пока одним набором работают, другой набор кипятится, а третий стынет после стерилизации на какой-либо стерилизованной огнем подставке. Для этой цели хорошо употреблять металлические стойки для окрашивания или фиксации препаратов. Для лучшей стерилизации вместо кипячения в воде кипятят в смеси: 1 часть глицерина и 2 части воды, дающей при кипении температуру в 105° (Bougert).

Для раздробления куска мяса, колбасы и пр. можно воспользоваться способом Romeller.

Кусок исследуемого материала заливают в стерильной банке физиологическим раствором, к которому предварительно прибавляется на кончике ножа папайатин (*Succus caricae* Parajae), стерилизованный сухим жаром (120°—2 часа), и переваривают при 37° в течение 2 дней.

Полученный материал употребляется для посева и пр.



При помощи микроскопического исследования мазков мы можем лишь ориентироваться относительно количества бактерий и присутствия некоторых видов бактерий (*B. anthracis*, *Rauschbrand* и т. д.). Одно микроскопическое исследование ни в коем случае не решает вопроса ни в положительную ни в отрицательную сторону. Рекомендуется просматривать мазки до посева; тогда, сообразуясь с обнаруженным количеством микробов, можно употреблять при посеве большее или меньшее количество чашек и брать в случаях большого количества микробов не материал *per se*, а его разведение.

Мазки делаются намазыванием куском мяса или органа по поверхности предметного стекла с последующей фиксацией в спирту 5—10 минут и окраской обычным способом.

### Проба на сохраняемость (Müller)

Из середины куска вырезают кубик со стороной примерно в 2—3 см, обжигают его на пламени газовой горелки, погружают в спирт на короткое время, спирт на поверхности сжигают.

Затем разрезают на две половины, кладут в чашку Петри и закрывают крышкой так, чтобы последняя прижимала поверхность свежего разреза, и ставят на ночь в термостат. Если наступят явления, то мясо находилось в начальной стадии его.

Усиленный выход мышечного сока свидетельствует о болезни животного. Проба не является абсолютной, но наряду с другими признаками результаты ее могут оказаться полезными.

### Исследование на бактерии паратифозной группы

Стерильным пинцетом захватывают кусок мяса, вырезанный из середины, и им делают аэробный посев на чашках со средой Дригальского, Эндо или какой-либо цветной средой.

Для этого проводят куском по поверхности среды и затем петлей штрихуют по всей чашке. Каждый кусочек пробы (а следует брать 3—4 из разных мест) сеют на две чашки с разными цветными средами и одну — с обыкновенным агаром.

При свежем, незагрязненном мясе можно употреблять для посева каждого кусочка не всю поверхность чашки, а лишь половину ее. На другой половине можно тогда сеять другую порцию. Такое сокращение посевной площади дает экономию чашек вдвое.

При сильно загрязненном мясе и в особенности при исследовании фарша или колбасы следует предварительно сделать разведения. Кусочек мяса, колбасы и т. д. величиной примерно с боб растирают в ступке с 5 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Взвесь забирают петлей и сеют; в случаях подозрения на сильное загрязнение сеют еще дополнительно разведение взвеси в физиологическом растворе (1 капля взвеси плюс 9—19 капель физиологического раствора).

Одновременно с посевом из глубины делают посев с поверхности. Для этого стерильным ножом соскабливают верхний слой, распределяют соскоб на две чашки цветных сред и одну чашку с обыкновенным агаром.

Таким образом каждую пробу сеют минимум на 4—5 чашек среды Дригальского, 4—5 чашек среды Эндо и 4—5 чашек обыкновенного агара.

При пользовании для посева половинами чашек число их сокращается вдвое. Следовательно минимально на одну пробу идет 6 чашек. Одновременно производится посев в жидкую среду для обогащения. В качестве таковой можно рекомендовать накопительную среду Müller, желчь в чистом виде или смешанную 1 : 4 с бульоном (можно употреблять и другие питательные среды с бриллиантгрюн, малахитгрюн и т. д.).

Небольшие кусочки пробы, опять-таки из разных мест, бросаются в пробирку со средой. На следующий день делаются пересевы на чашки со средами Эндо и Дригальского по одной чашке каждой среды на пробирку.

Дальнейшее исследование, как и при непосредственном посеве на твердые среды.

Обогащение по способу Conradi сложно и не дает хороших результатов.

Можно вести накопление помещением в термостат куска мяса, обожженного с поверхности (способ Bongert и Müller). Но лучшими являются способы с жидкими питательными средами, из них на первом месте следует поставить среду Мюллера и желчь.

На следующий день засеянные чашки подвергают исследованию с целью обнаружения подозрительных колоний, причем все данные тщательно протоколируются на отдельной карте, образец которой приводится.

Запись можно вести условными знаками. Standfuss предлагает пользоваться следующими знаками, удобными для практики:

Рост на чашках:

Отсутствие роста . . . . .	—
1—20 колоний . . . . .	++
20—50 колоний . . . . .	+++
Среднее количество . . . . .	++++
Очень много . . . . .	+++++

Род колоний обозначается цветом:

Coli-колонии . . . . .	красный
Подозрительные на колонии паратифозных палочек . . . . .	желтый
Прочие колонии . . . . .	черный

Колонии на чашках обыкновенного агара учитываются лишь количественно.

Исследование чашек на присутствие подозрительных колоний ведется следующим образом.

Сперва производят осмотр колоний невооруженным глазом и при помощи лупы и отмечают подозрительные колонии номерами на стенке чашки при помощи воскового карандаша.

Подозрительными считаются колонии, не дающие изменения цвета среды (или лишь слабое изменение) и более или менее прозрачные. Как вовсе неподозрительные принимаются колонии, давшие резкое изменение цвета среды, совершенно непрозрачные, пигментообразующие, с совершенно сухой поверхностью и т. д.

**Протокол исследования мясных продуктов**  
**Род продукта (мясо, консервы, пащеты, колбаса и т. п.)**

Поступило ..... 19 .. г.  Результаты внешнего осмотра	Части, подвергнутые исследованию	Эндо	Дригальский	Обыкновенный агар	Анаэробные культуры	Proteus	Примечание		
Микроскопическое исследование мазков	Индол	L. Molké	Молоко	Среда с нитрозой или Нисс глюкоза    сахароза    маннит    мальтоза	Среда Stern	Среда Bitter	Рафиноза-агар Ваттообразов. Аглютинация Цитр сыворотки	Результаты аглютинации 1-й день    2-й день	Примечание
	Реакция Ascoli	N							
Токсин Botulinus									
Аглютиниум в мышечном соке									
Проба на запаиваемость									
Анализ закончен				Заключение					
« .. . 19... г.				Подпись					

Отмеченные подозрительные колонии подвергаются исследованию при помощи ориентирующей пробы аглютинации.

### О р и е н т и р у ю щ а я   п р о б а   а г л ю т и н а ц и и

Эта проба производится следующим образом: на предметное стекло наносят ряд капель крепкого разведения сыворотки, например 1 : 50, и в каждой капле осторожно эмульгируют часть одной колонии. В случае положительного результата уже через несколько секунд образуются хлопья, при отрицательном результате капля остается гомогенной.

Давшие положительную реакцию колонии подвергаются дальнейшему исследованию. Предметное стекло с ориентирующей пробой аглютинации подсушивают и окрашивают по Граму, для того чтобы убедиться в наличии в аглютинировавшей капле грамотрицательных палочек. С остальной части колонии готовят взвесь на предметном стекле в капле физиологического раствора. Если эта проба будет отрицательной (не будет образования хлопьев), то колония считается окончательно подозрительной и из нее делается высев на косой агар для последующей идентификации.

При производстве ориентирующей пробы необходимо употреблять по крайней мере 3 сыворотки: Gärtner, Breslau, Suipestifer.

Одной колонии на 4 капли плюс 1 контрольная конечно не хватит. Поэтому можно по предложению Standfuss пользоваться смесью равных частей указанных сывороток, разведенных каждая 1:8.

В случае отрицательного результата ориентирующей пробы минимум с десятью подозрительными внешне колониями результат исследования в отношении бактерий группы паратифа считается отрицательным.

В случае, когда подозрительные внешне, но неаглютинирующиеся колонии попадают почти на всех посевах и в большом количестве, все же делают высев из них, так как это могут быть неаглютинирующиеся разновидности паратифозной группы.

В том и другом случае мы не должны ограничиваться высевом одной колонии, а высевать по крайней мере 3 колонии на косой агар.

На следующий день проверяется чистота культуры и производится посев в пестрый ряд (состав см. стр. 165 «Бактериология группы coli-typhus»).

Посевы в пестрый ряд выдерживают при 37° в течение 72 часов. Изменения в питательных средах и характер роста регистрируются, и культуры идентифицируются (согласно таблице в приложении).

Параллельно с посевом в пестрый ряд делается высев на несколько пробирок косого агара. Из них 1—2 идут в коллекцию для сохранения культуры, а остальные служат для окончательной реакции аглютинации.

### П р о и з в о д с т в о   р е а к ц и и   а г л ю т и н а ц и и

Для реакции аглютинации употребляют сыворотки Gärtner, Breslau и Suipestifer. Ввиду наличия групповой аглютинации, особенно часто встречаемой при аглютинации Breslau, и штаммов,

патогенных для различных животных (группа *suipestifer*), эта реакция не всегда дает возможность установить принадлежность выделенной культуры к тому или иному виду; окончательно решается вопрос на основании реакции Castellani и учета культурных признаков (подробности см. в отделе «Бактериология группы *coli-typhus*»).

### Биопроба

Применявшаяся ранее проба на присутствие в продукте паратифозных бактерий и их токсина сейчас почти оставлена. Причиной этого является ненадежность биопробы (Mühleus, Furst, Gläser и др.).

Мыши зачастую являются носителями паратифозных бактерий.

Избыточное кормление их мясом (даже доброкачественным), нарушая резистентность организма, создает возможность проникновения микробов из кишечника в кровь и т. д. и в случае гибели мышей симулирует гибель от микробов. Определение же при помощи биопробы наличия токсина ввиду решительных сомнений в существовании паратифозного энтеротоксина, действующего на человека, также не следует применять.

### Исследование на *Proteus vulgaris*

Для выделения *Proteus vulgaris* очень удобно пользоваться методом Щукевича. Кусочек мяса из глубины, а также соскоб с поверхности засевают в конденсационную воду косога агара.

Посев производят осторожно, чтобы не коснуться материалом поверхности агара, а внести его прямо в конденсационную воду.

Засеянные таким образом пробирки ставят в термостат.

Если в материале имеется *Proteus vulgaris*, то он воспользуется доверху косога агара, откуда его можно почти всегда выделить уже в чистой культуре.

Рост *Proteus vulgaris* представляется в виде нежного полупрозрачного, а иногда совсем прозрачного налета. При исследовании мазками культура должна состоять из грамотрицательных палочек с более или менее выраженным полиморфизмом.

Наличие воспользования и указанная морфологическая картина практически достаточны для диагноза *Proteus vulgaris*.

В случае надобности в точном диагнозе выделенную культуру засевают в пестрый ряд, подобный употребляемому для идентификации *B. coli* (см. главу о воде; биохимическую характеристику *Proteus* см. табл. в конце книги).

Но следует иметь в виду, что *Proteus* может существовать в виде H-Form и O-Form. Первая (соответствует гладкому S-варианту Arkwright) обладает ползучестью и выделяется при описанном способе.

Вторая (соответствует промежуточному между S- и R-вариантами Arkwright) дает колонии, подобные колониям микробов группы паратифов, и может быть обнаружена лишь при исследовании чашек и культур на палочки паратифа.

Штуцер считает O-Form *Proteus vulgaris* идентичным *B. Dahlem* Gildemeister и Baerthlein. По культуральным признакам O-Form

представляется лишь количественно отличным от Н-Form, но вообще его диагноз при помощи пестрого ряда удается без труда.

Обнаружение токсина *Proteus vulgaris* опытом кормления мышей хлебом, смоченным фильтратом культуры или исследуемых продуктов, а также инъецированием фильтрата внутривентриально сейчас не может быть рекомендовано за недоказанностью существования у *Proteus* энтеротоксина, вызывающего заболевание у людей.

### Анаэробный посев

Из простых способов, дающих хорошие результаты для выращивания анаэробов, можно применить посев в сахарный агар. Кусочек мяса бросается в расплавленный и остуженный до 45° агар, или среду Wilson-Dalain (см. исследование воды), после чего пробирка с агаром сразу опускается в холодную воду. При растапливании агар для регенерации среды следует кипятить 15—20 минут.

Можно зараженный таким образом агар вылить на крышку чашки Петри и покрыть наружной поверхностью дна чашки, тогда слой агара окажется в анаэробных условиях. Этот способ хорош для учета наличия количества анаэробов, но в присутствии факультативных анаэробов без дальнейшего исследования мы наших заключений делать не можем.

При стерильных аэробных посевах наличие роста в анаэробных условиях определенно указывает на присутствие в материале анаэробов.

### Исследование на *B. botulinus*

#### Физическое исследование

Отсутствие гниения при запахе прогорклого масла и большой кислотности делает продукты подозрительными на *B. botulinus*.

#### Обнаружение токсина

Мясо, колбаса и пр. исследуются на присутствие токсина: а) кормлением животного, б) интраперитонеальной инъекцией.

Для опыта кормления животного исследуемый материал делится на две части, из которых одна прогревается полчаса при 100°, затем и горячая и холодная части скормливаются двум свинкам.

Если животные не едят, рекомендуется смешать с естественным кормом. При опыте кормления следует тщательно учитывать, съели ли животные предложенную им пищу и в каком количестве.

Для интраперитонеальной инъекции материал тщательно растирается в ступке с песком и извлекается в течение 1—2 часов физиологическим раствором с буфером.

Если исследуются консервы, то можно прямо взять жидкость, содержащуюся в банках.

Консервная жидкость или экстракт из продуктов затем центрифугируется в течение часа.

Фильтрация через свечу Беркенфельда, которое рекомендуется некоторыми авторами (Weinberg), следует избегать, так как слабые токсины благодаря адсорбции могут при фильтровании потеряться. Отцентрифугированную жидкость делят на две равных части; одну часть прогревают на водяной бане при  $100^{\circ}$  в течение 30 минут;  $0,5\text{ см}^3$  гретого и негретого центрифугата инъецируются интраперитонеально двум мышам или лучше, свинкам.

При наличии токсина животное, зараженное негретым материалом, обычно погибает через 4—72 часа при явлениях, характерных для ботулизма. Контрольное животное, зараженное грым токсиним, остается живым и здоровым.

Для определения вида *B. botulinus* впрыскивают материал, содержащий токсин, четырем мышам, из которых первая предварительно получает  $1\text{ см}^3$  антитоксина типа А, вторая—типа В, третья—типа С и четвертая служит контролем. Выживание той или иной мыши укажет на вид токсина. Наблюдение за мышами следует вести до 10 дней.

Bengston в ответственных случаях рекомендует заражать мышей сериями по 3 в каждой.

### Выделение культуры *B. botulinus*

Продукты подщелачиваются, затем подогреваются 20 минут при  $80^{\circ}$ , центрифугируются и из осадка делают высевы на чашки кровяного агары, помещаемые в анаэробные условия и в бульон с кусочком печени (приготовление см. ниже) для накопления. С посевов в бульон через 3—8 дней пребывания их при температуре в  $35^{\circ}$  делаются пересевы на чашки кровяного агары. Благодаря гемолизности колоний последние легко узнаются. Для лучшего проявления гемолитических свойств рекомендуется прибавлять к среде глюкозу.

Из подозрительных колоний делают мазки, высевы в бульон с печенью для определения токсинообразования, в пестрый ряд—для определения биохимических свойств.

Проба на токсин может быть сделана как с первичным накопительным посевом, так и с бульонной культурой микроорганизма, уже выделенного в чистом виде. Наблюдение за токсинообразованием ведется до 15 дней (рекомендуются пробы на 3-й, 5-й и 15 день).

Если токсинообразование не наступает даже на 15-й день, а по всем остальным свойствам культура идентична *B. botulinus*, то такую культуру следует считать атоксичным *B. botulinus*. Серологическое обследование выделенного штамма (если есть соответствующие сыворотки) позволяет установить серологический тип.

Применение хороших агглютинирующих сывороток дает возможность даже заменить определение типажа биопробами, что конечно выгодно.

Для получения достаточно точных результатов необходимо агглютинацию проводить с культурой, находящейся в том же состоянии, в котором находилась культура, употребленная для получения агглютинирующей сыворотки. Иными словами, для агглютинации вегетативных форм надо брать агглютинирующую сыворотку, при-

готовленную иммунизацией животного вегетативными формами *B. botulinus* тоже для споровых форм (Наследышева). Вместо помещения чашки с кровавым агаром в обычные аппараты для анаэробных культур можно воспользоваться методом Fortner или посевом в столбик агара.

Посев по Fortner производится следующим образом.

Чашку с кровавым агаром делят на две половины вырезыванием по диаметру полоски агара в 0,5 см шириной, которая и удаляется. Одна половина чашки засеивается исследуемым материалом, другая — 24-часовой культурой *B. prodigiosus* (возможно гуще). После посева края чашки тщательно обмазываются пластилином. *B. prodigiosus*, развиваясь быстро, поглощает кислород в герметически закрытой чашке и создает анаэробные условия. Для более быстрого удаления кислорода рекомендуется брать чашку глубиной в 0,5 см. Посевы следует выдерживать в термостате 4—8 дней.

На хорошую эвакуацию кислорода указывает наступающее через несколько дней потемнение среды (образование метгемоглобина). Следует засеивать по крайней мере 3—4 половины чашек, чтобы в случае обилия спорозоных микробов получить рост изолированных колоний.

При описанном способе из прогретого материала могут быть выделены лишь штаммы, дающие высокорезистентные споры, но практически этот метод дает хорошие результаты.

При подозрении на возможность гибели малорезистентных форм одновременно с прогретым материалом засеивают негретый материал на возможно большее количество чашек.

Бульон с печенью готовится следующим образом:

Печени . . . . .	400,0	Воды . . . . .	400 см <sup>3</sup>
Мелко порезанных свиных желудков . . . . .	400,0	Соляной кислоты . . . . .	40 см <sup>3</sup>

Ставят на 18—24 часа при 50° (или при 37° — на больший срок, до полного переваривания). При появлении биуретовой и триптофановой реакции бульон нагревается 10 минут при 100°, ставится на ледник на 24 часа. Отстоявшаяся прозрачная или почти прозрачная жидкость сливается с осадка, нейтрализуется.

К бульону затем добавляется 0,2% двусоснового фосфорнокислого калия в качестве буфера. Готовый бульон разливается по пробиркам и к каждой пробирке добавляется кусочек печени (примерно  $\frac{1}{3}$  объема бульона), сваренной отдельно и промытой в воде.

Перед посевом бульон прогревается в водяной бане при 100° в течение 12—20 минут и затем охлаждается.

Рекомендуется кроме того покрывать бульон в пробирке слоем вазелинового масла.

В случае отсутствия под руками бульона вышеуказанного рецепта можно взять обычный бульон с кусочком печени.

## Реакция преципитации

В последнее время разработка реакции преципитации (Starin и Dask, Наследышева, Глотова, Фельдман и др.) дала хороший метод для установления зараженности продукта и идентификации выделенных культур.



Антигенами служат либо экстракты из продуктов, рвотных масс, либо фильтрат бульонной культуры подозрительного микроба (в накопительном первичном посеве или в чистой культуре).

Преципитирующая сыворотка готовится иммунизацией кроликов (Зелевинская) 1—2-дневными бульонными культурами *B. botulinus* А и В, обработанными 5—10 дней при 37°—3% формалина до стерильности. Схема иммунизации: доза 0,5—1,0—1,5—2,0 и т. д. до получения достаточного титра с интервалами 4—5 дней.

Достаточным титром следует считать 1 : 5 000—10 000 (по аглютинации). Этот же метод годится (Глотова) и для приготовления преципитирующей и для аглутинирующей сывороток.

Для производства реакции производят переслаивание сыворотки и антигена (подробности о реакции см. стр. 232 и 234).

Наиболее подходящая температура для постановки реакции 20—22° (Наследышева). Наблюдение за появлением кольца ведут до 6 часов.

В случае положительной реакции продукт задерживается до уточнения диагноза подробным обследованием.

### Х а р а к т е р и с т и к а *B. botulinus*

Этот род микробов состоит из трех разновидностей *B. botulinus*—А, В и С. Описанный Seddon штамм *B. parabotulinus* видимо идентичен *B. botulinus* С.

**М о р ф о л о г и я.** Довольно крупная (3—8  $\mu$   $\times$  0,3—0,8  $\mu$ ) палочка с закругленными концами. Располагается поодиночке, парами и цепочками.

**С п о р ы:** тип С—полярно расположенные овальные споры, не утолщающие палочки; типы А и В образуют субтерминальные или центральные споры, утолщающие палочку (*Clostridium*).

**О к р а с к а п о Г р а м у.** Молодые культуры грамположительны, старые дают неопределенную окраску. Капсулы не образуются.

**П о д в и ж н о с т ь.** Типы А и В подвижны, тип С слабо подвижен.

*B. botulinus* во всех его видах является строгим анаэробом.

На агаре образует круглые или древовидные колонии. На кровяном агаре—кайма довольно сильного гемолиза. В глубине агара—полуупакованные *bi-convex* или почкообразные колонии. У старых—неправильные отростки.

**Б и о х и м и ч е с к и** они обладают следующими свойствами:

Бульон с печенью	— муть, газ, запах масляной кислоты; индола не образуется
Желатина	— медленно разжижается
Молоко	— свертывание, пептонизация на 4—10-й день
Hirnbrei	— полное почернение
Глицерин	+
Глюкоза	+
Левулоза	+
Галактоза	— и + тип С (Bengston)
Инсулин	—
Крахмал	+
Маннит	—

Дульцит	—
Салицин	+
Мальтоза	+
Сахароза	—
Лактоза	+

Примечание. + сбраживание  
— отсутствие его

Тип С в отличие от А и В не обладает протеолитическими свойствами.

Главное же отличие различных видов *B. botulinus* заключается в образовании специфических токсинов, нейтрализующихся лишь гомологичными антитоксинами.

Токсин кроме обычных сред для токсинообразования хорошо образуется на некоторых пищевых веществах (фасоль, картофель, семга, горошек).

В общем довольно легко получить токсин, убивающий свинку в 250 г весом в дозе 0,00001—0,000002 см<sup>3</sup> подкожно в 4 дня.

Для получения того же эффекта при заражении пер оз дозу следует увеличить в 1 500—2 000 раз. При внутрибрюшинном введении резко сокращается инкубационный период.

Устойчивость токсина к температуре: Bengston имел токсин, разрушающийся лишь через 1½ часа при температуре в 100°. Но обычно устойчивость значительно слабее: по Orr—5 минут, по Armstrong—30 минут, по Tanner—60 минут при температуре в 80°.

По Nelson токсины разных типов обладают разной устойчивостью к температуре: токсин типа А при 80° разрушается в 6—10 минут, типа В—в 15 минут и наконец типа С—в 30 минут. Поэтому обычно кипячение в течение 15 минут может гарантировать обезвреживание токсина.

В противоположность другим токсинам ботулиновый токсин не изменяется в своей силе при действии сильноокислой среды. По Bronfenbrenner рН 2,0—3,0 даже усиливает действие токсина.

Также не действует на токсин ботулизма желудочный сок.

Щелочи разрушают токсин полностью или частично.

Размножение бацил и образование токсина задерживаются в среде, содержащей 8 и более процентов соли.

Наряду с токсичными штаммами встречаются штаммы и варианты, не обладающие способностью к продукции токсина (Orr, Burke, Bengston, Haxler и др.).

Введение токсина животным вызывает после некоторого инкубационного периода характерную картину заболевания. У морских свинок появляется паралич мускулатуры; мышцы живота расслабляются, живот болезнен. У мышей наступают явления общей слабости, парезы задних конечностей, сильная одышка со втягиванием стенок брюшной полости и реберным типом дыхания. На секции—общая гиперемия. У кошек—мидриаз, паралич мигательной перепонки, афагия, афония, слезотечение из глотки, анурия и запор.

Серологические виды *B. botulinus* делятся на 9 серологических типов (последняя работа Colemann и Gunnison). Из них 1-й и 7-й, 5-й и 9-й дают перекрестную агглютинацию. Остальные специфичны. Практического значения определение агглютинационных типов еще не имеет. Гораздо важнее определение вида (А, В и С).

Дифференцировка с другими анаэробами может быть проведена согласно таблице в приложении (особенности идентификации анаэробов при помощи пестрого ряда см. отдел «Исследование почвы на присутствие анаэробов»).

### Исследование на присутствие палочек туберкулеза

Особой методики не выработано. Исследования производятся по общим правилам. Если речь идет о целой туше, то производят патологоанатомический осмотр и микроскопическое исследование, а в случае надобности посевы и опыты на животном подозрительных очагов.

При исследовании куска мяса, мясных продуктов или консервов материал размельчают, экстрагируют, фильтруют через марлю (несколько слоев), затем центрифугируют и осадком производят посевы и заражение животного. В случаях жирного материала его обрабатывают аналогично молоку (см. также подробности в главе о молоке).

### Исследование на *B. anthracis*

Если мясо или продукты свежие и не загрязнены посторонними микробами, поступают следующим образом. Материал размельчают и растирают в ступке, фильтруют через марлю, фильтрат центрифугируют. Осадок: а) подвергают микроскопическому исследованию, б) сеют на чашки с обыкновенным агаром и в бульон, в) вводят подкожно (с возможно большим повреждением кожи краев кожного кармашка, сделанного для введения материала) свинке или мыши.

На следующий день исследуют посевы на чашках и отбирают подозрительные колонии для дальнейшего изучения. У погибших животных исследуют мазки из крови и селезенки и производят из них же посевы. Идентификация по общим правилам. Если мясо или продукты сильно заражены гнилостными и прочими микробами, среди которых может быть много стойких спороносных вирулентных анаэробов и гноеродных анаэробов, следует материал предварительно освободить от них. Освобождение необходимо, так как: а) при посевах среди массы колоний других микробов легко просмотреть колонии *B. anthracis*, б) зараженные животные могут погибнуть от посторонней инфекции.

Для освобождения материала от посторонних микробов поступают так. Материал (лучше в измельченном состоянии) засевают в бульон и ставят в термостат при 37°. Через 24 часа посев прогревают при 70° в течение 30 минут; при этом погибают все неспорозные формы. Предварительное пребывание в термостате необходимо, чтобы палочка сибирской язвы могла образовать споры, ибо в организме животных (мясо и пр.) она спор не образует.

Для освобождения от спорозных анаэробов посевы ставят дополнительно на 48 часов при анаэробных условиях при 37°. За это время споры анаэробов успеют прорасти (а аэробов, в том числе сибирской язвы, не прорастут), и если затем посев вновь прогреть при 70° в течение 30 минут, то в посевах останутся почти исключительно спорозные аэробы, в том числе палочка сибирской язвы. Последнюю тогда выделяют посевом на чашках с агаром и опытом на животных.

Следует сказать, что исследование сильно загрязненного материала представляет большие трудности, и лучше в таких случаях произвести исследование при помощи реакции Ascoli, которая может быть ввиду ее большой простоты рекомендована и для исследования свежего материала.

### Производство реакции Ascoli

Предварительно следует отметить, что чувствительность этой реакции очень велика. Она получается даже там, где уже давно нет живых спор и бактерий, а имеется лишь мертвый белок сибиреязвенных палочек. Реакция Ascoli представляет собой реакцию преципитации между искусственно полученной сибиреязвенной преципитирующей сывороткой и вытяжкой из исследуемого материала.

Преципитирующие сыворотки должны быть строго специфичными (их лучше всего получать из центральных больших институтов, специально занимающихся приготовлением таких сывороток).

Вытяжка может быть приготовлена различными способами:

1. Кусок исследуемого материала величиной с боб (или несколько) вносят в пробирку с десятикратным по объему количеством физиологического раствора с 0,5% карболовой кислотой и нагревают в водяной бане при 100° в течение 15—45 минут. Если нужно, подщелачивают до нейтральной или слабощелочной реакции. Затем фильтруют через асбестовую вату до получения вполне прозрачного фильтрата.

Если фильтрат не получается прозрачным, вытяжку центрифугируют при 3 000 оборотах в минуту или обрабатывают небольшим количеством животного угля в течение короткого времени и сразу фильтруют через смоченный фильтр (если нужно—многократно, до получения вполне чистого прозрачного фильтрата). Для успешности опыта важно, чтобы вытяжка находилась в соприкосновении с углем не более двух минут.

2. Если мутьность фильтрата зависит от присутствия жира, хорошо готовить хлороформную вытяжку. Кусок материала с боб величиной растирается в ступке со стерильным кварцевым песком; при растирании постепенно прибавляется хлороформ. После растирания хлороформ сливается, ступка ставится в термостат для испарения хлороформа. По испарении последнего к растертому материалу добавляют 10 см<sup>3</sup> физиологического раствора с 0,5% карболовой кислоты, растирают и дают настояться до следующего дня, после чего фильтруют и получают почти без исключений совершенно прозрачный экстракт.

Производство пробы на слоения. Для производства реакции употребляют специальные преципитационные пробирки (узкие с широким рантом, помещаемые в специальные штативы, так что они висят, держась за рант). Но в случае отсутствия их можно вполне обходиться с обыкновенными аглютинационными пробирками.

Итак, берут 4 преципитационные пробирки и в них наливают сперва 0,1 см<sup>3</sup> (или 2 капли) преципитирующей или нормальной сыворотки и переслаивают вытяжкой из материала, приготовленной тем или иным способом (0,5—1,0 см<sup>3</sup>).

### Схема реакции следующая:

Пробирки	Сыворотка (по 0,1 см <sup>3</sup> )	Вытяжка (0,05—1,0 см <sup>3</sup> )
1	Преципитирующая	Из исследуемого материала
2	Нормальная того же животного, что и преципитирующая	То же
3	Преципитирующая	Из того же сорта материала, но заведомо незараженного
4	Нормальная	То же
5	Преципитирующая	Из заведомо сибиреязвенного материала
6	Нормальная	То же

В случае положительной реакции при правильных контролях не позднее чем через 5 минут в пробирках №№ 1 и 5 должно появиться явственное белое кольцо.

В остальных пробирках переслоенные жидкости должны резко отграничиваться, но без всяких следов белого кольца.

Реакцию удобно производить в специальных стаканчиках (рис. 21). Вытяжка фильтруется через асбест в воронке и по змеевидной трубочке, упирающейся в стенку пробирки, стекает на слой сыворотки.

При массовых пробах можно предварительно проделывать лишь пробу с переслоением исследуемого экстракта с преципитирующей сывороткой (пробирка № 1) с постановкой одного общего контроля в пробирках №№ 5 и 6. При получении положительного результата с соответствующим материалом ставятся все необходимые контроли для подтверждения специфичности реакции.

При учетывании результатов этой пробы следует иметь в виду, что при имевшей место при жизни животного противосибиреязвенной вакцинации проба может дать положительный результат, без того чтобы в материале находились хотя бы мертвые сибиреязвенные палочки.

Известная возможность получения преципитации с экстрактами из *B. anthracoidi* и *B. pseudoanthracis* не должна нас смущать, так как на практике они никогда не содержатся в мясных продуктах в таком количестве, чтобы дать достаточное количество преципитиногена для получения реакции.



Рис. 21.  
Стаканчик.

### Определение аглютининов в мышечном соке

3 г исследуемого мяса растираются в ступке с девятикратным по весу количеством физиологического раствора. После 30-минутного настаивания фильтруют через плотную фильтровальную бумагу. Из полученного таким образом основного разведения 1 : 10 готовят разведения: 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 100, 1 : 150, 1 : 200 и проделывают реакцию аглютинации с главнейшими микробами паратифозной группы (*B. Gärtner*, *B. Breslau*, *B. Suipestifer*) по обычным правилам. При специальном задании выяснения прижизненности или постмортальности инфекции выделенным из мяса микробом реакцию делают лишь с последним.

## Реакция преципитации Uhlenhut для определения рода белка

Реакция служит для определения замены мяса одного животного мясом другого как в чистом виде, так и в различных продуктах. Применима она и для отличия мяса птиц, рыб и т. д. Для производства реакции необходимо иметь набор преципитирующих сывороток тех видов животных, мясо которых подлежит определению, например лошадиной, бычьей, бараньей, свиной и пр.

Преципитирующие сыворотки получают при помощи повторных впрыскиваний кроликам белка определенного вида животного. Через несколько инъекций сыворотка кролика приобретает способность давать преципитацию (образовывать осадок), а при переслаивании — кольцо с экстрактами из мяса соответствующих животных; реакция эта специфична и не получается в надлежащих разведениях с экстрактами мяса других животных.

### Методика производства реакции (согласно последним указаниям Uhlenhut)

Реакция преципитации может производиться со свежим, сушеным, копченым, соленым и даже с загнившим мясом.

**Приготовление экстрактов.** Специальным ножом из середины куска мяса (поверхность может быть загрязнена белками мяса других животных) вырезают кусочек.

Мясо должно быть освобождено от жира. Кусок мяса примерно в 30 г весом измельчают в абсолютно чистых условиях, лучше стерильных, заливают 50 см<sup>3</sup> физиологического раствора и настаивают. Свежее мясо настаивается в течение 1 часа. Соленое мясо предварительно обмывается в колбе многократно сменяемой дистиллированной водой в течение 10 минут, затем уже заливается физиологическим раствором и ставится экстрагироваться на 3 часа при комнатной температуре или на 24 часа на леднике.

Копченое мясо обрабатывается в течение 24 часов. При экстрагировании встряхивать не рекомендуется.

Полученный экстракт фильтруется через бумажный фильтр, насыпанный тальком и смоченный физиологическим раствором. Фильтрат должен быть совершенно прозрачным. Фильтрация производится непосредственно перед опытом, так как при стоянии может образоваться муť. Полученный экстракт должен предварительно быть испытан на содержание белка. Слишком большое и слишком малое количества делают реакцию неточной.

Разведение белка в экстракте должно быть примерно 1 : 300. Для ориентировки наливают в пробирки 1 см<sup>3</sup> экстракта и прибавляют 1 каплю азотной кислоты (удельный вес 1,153). Если при этом тотчас образуются хлопья, оседающие на дно пробирки, то раствор является еще слишком крепким для производства реакции. Тогда его разбавляют постепенно физиологическим раствором, пока проба с азотной кислотой не будет давать равномерно опалесцирующего помутнения, через 5 минут выпадающего в виде осаждающихся на дно пробирки хлопьев.

Далее должна быть проверена и в случае надобности исправлена реакция. Она должна быть нейтральной или в крайнем случае слабо-

кислой или слабощелочной по лакмусу. Исправление реакции следует производить 0,1% содовым раствором крайне осторожно.

Одновременно должны быть заготовлены и постоянно иметься в лаборатории контрольные экстракты из мяса разных животных (лошади, быка, свинки и т. п.). Изготовление их одинаково с экстрактом испытуемого мяса. Контрольные экстракты должны быть свежeproфильрованными и при одновременной пробе с азотной кислотой давать помутнение одинаковой силы с испытуемым экстрактом.

**Производство реакции.** Для выполнения реакции должны употребляться вполне чистые стерильные узкие и высокие пробирки возможно одинакового диаметра.

Схема производства реакции следующая:

Пробирки	Экстракт в колич. 1 см <sup>3</sup>	Сыворотка в колич. 0,1 см <sup>3</sup>
1	Испытуемый	Лошадиная преципитирующая
2	»	норм. сыв. того вида животного, на кот. пригот. преципитир. сыв.
3	Из лошадиного мяса	Лошадиная преципитирующая.
4	» бычьего	»
5	» свиного	»
6	Физиол. раствор	»

Все жидкости прибавляются отдельными стерильными пипетками (с делениями на 0,01 см<sup>3</sup>). Сперва наливают экстракты, потом осторожно по стенке наклоненной пробирки—сыворотку (избегать образования пузырей), собирающуюся при этом на дне пробирки.

Преципитирующая сыворотка для каждой реакции должна браться из одной и той же ампулы.

Вся реакция производится при комнатной температуре.

Если в течение 20 минут в 1-й и 3-й пробирках появится помутнение (кольцо на границе смешения, постепенно расплывающееся в муть с образованием хлопьев), а в остальных жидкость останется вполне прозрачной,—реакция считается положительной на лошадиное мясо.

Наблюдение образования кольца и мути следует вести при падающем свете на черном фоне.

Точно таким же образом можно вести испытание бычьей или свиной и т. д. преципитирующими сыворотками.

Следует указать, что при помощи этой реакции нельзя отличать мясо близких видов животных, например лошади и осла. Применение описываемой реакции встречает затруднения при необходимости исследования вареного мяса (например вареная колбаса). При действии высокой температуры белок денатурируется и перестает быть чувствительным антигеном. Кроме того высокая температура переводит белок в нерастворимое состояние, благодаря чему затрудняется экстрагирование. Поэтому реакция на вареное мясо гораздо менее чувствительна.

Для придания реакции большей чувствительности было предложено много методов. Schmidt, Шапшев и др. предлагают пользоваться преципитирующими сыворотками, приготовленными при помощи иммунизации мышечным соком, подвергнутому нагреванию, (70°—30 минут) и обработке щелочью (0,1%), или содой на физиологическом растворе. Для получения (по Шапшеву) таких преципи-

тинов кролики получали до 10 инъекций по 30 см<sup>3</sup> внутривенно через 2 дня на третий.

Материалом служил экстракт из мышц, полученный обработкой жидкостью: воды—1 000 см<sup>3</sup>, соды—1,0, поваренной соли—8,5. Рубленое мясо и раствор брались в равных количествах и взбалтывались 24 часа в Schüttelapparat; перед инъекцией экстракты прогревались 30 минут при 70°. Титр сыворотки получался у Шапшева для гомологичных экстрактов 1 : 500—1 : 250, для гетерогенных 1 : 25—1 : 50.

Экстракты из мяса готовятся также на 0,1% растворе соды в физиологическом растворе для лучшей экстракции белка.

Указанные сыворотки обладают большей способностью реагировать с денатурированными белками, чем сыворотки, приготовленные с нативными. Но полученные результаты показывают, что методика эта обладает рядом еще не устраненных недостатков (между прочим меньшей специфичностью) и поэтому не может быть рекомендована для практической работы (Uhlenhut и Seiffert), тем более что соответствующие сыворотки еще не готовятся для отпуска практическим учреждениям.

Пока же при исследовании вареного мяса следует употреблять длительное экстрагирование (48 часов) для переведения в экстракт сохранившихся в мясе нативных белков и брать материал из самой глубины куска (так как внутренние части подвергаются воздействию меньшей температуры, чем наружные).

Во многих случаях такая обработка позволяет получить положительные результаты.

Получение преципитирующих сывороток. Приготовление сывороток является задачей специальных лабораторий (обычно судебно-медицинских или больших институтов), откуда и надлежит их выписывать.

Следует лишь указать, что работы последнего времени (Fudjiwara, Beger, Meissener, Manteufel, Tomioka и др.) показали возможность получения строго специфичных сывороток (без групповой преципитации), например некоторые сыворотки Fudjiwara при титре для человеческого белка 1 : 50 000 вовсе не дают преципитации с обезьяньим белком.

Исследование различных мясных продуктов (колбас, паштетов, фарша и т. п.) имеет ту особенность, что надо учитывать возможность присутствия постороннего белка в небольшом количестве. При общем разведении белков 1 : 300 (проба с азотной кислотой) посторонний белок может иметься в разведении 1 : 1 200 и более.

Это обстоятельство заставляет употреблять лишь высокоактивные сыворотки (не менее 1 : 20 000 титром) и по возможности лишенные групповых преципитинов.

Затем при изготовлении экстрактов следует брать 50 г материала из разных мест пробы; кроме обычного измельчения пробы растирают в ступке с песком, взбалтывают (важно при вареных продуктах) в Schüttelapparat 1—2 часа и настаивают до 48 часов (ср. «Исследование мяса»).

При большом содержании жира для удаления последнего обрабатывают материал 24 часа.



В остальном методика одинакова.

Не исключена возможность дифференцировки при помощи реакции преципитации сала различных животных, если только оно не подвергалось сильному нагреванию (желтое топленое сало абсолютно негодно).

Методика получения из сала экстрактов, содержащих белок, следующая: 50 г сала размельчают и обрабатывают многократным промыванием в подогретом до 37° бензине, затем растирают в подогретой до 40° ступке вместе с бензином, сменяя последний, пока капли его перестанут давать следы жира на фильтровальной бумаге.

Остаток высушивают при 37°, экстрагируют дистиллированной водой (10—20 см<sup>3</sup>) и исследуют, как и экстракт мяса.

Кроме возможности отличать мясо различных животных реакция эта делает возможным определение наличия или отсутствия белков желтка и белка куриного яйца в тех или иных продуктах.

Для этого исследуемые продукты (макароны и пр.) измельчаются и экстрагируются в тройном объеме физиологического раствора.

Обычно разведение такого раствора 1:15 дает подходящей силы реакцию на белок (с HNO<sub>3</sub>) и исследуется, как указано для экстрактов мяса.

Следует указать, что сыворотки, приготовленные при помощи желтков, почти не преципитируют экстракта белков яиц.

В случае невозможности получить прозрачные экстракты реакцию читают не по образованию муты, а образованию хлопьев (на манер аглютинации), тщательно сравнивая с контрольными пробирками.

Употребляется реакция также для дифференцировки икры различных животных (1 г икры, 10 см<sup>3</sup> физиологического раствора, далее—обычно), для определения присутствия меда и его состава (из каких цветов). Но к сожалению большинство этих реакций на практике неприменимо; так как мало разработано, а главное не вырабатываются соответствующие сыворотки. Приготовление же набора всех сывороток представляет большую кропотливую работу, не всегда оправдываемую получаемыми практическими результатами.

### Биологические методы определения доброкачественности мяса<sup>1</sup>

Методы эти основаны на учете результатов жизнедеятельности и скорости размножения бактерий, имеющих в мясе. Если количество бактерий большое и они являются главным образом гнилостными, то пробы эти дают определенный результат.

#### Кислородный способ

Растирают 5 г измельченного в котлетной машинке или ножом исследуемого мяса в ступке с 20 см<sup>3</sup> воды. Полученную массу помещают в склянку с притертой пробкой емкостью в 300 см<sup>3</sup> и доливают дистиллированной водой так, чтобы в склянке не оставалось воздуха. Дистиллированная вода должна иметь температуру 22°. Через 1 час хранения при 22° определяют по Винклеру количество растворенного в воде кислорода.

<sup>1</sup> Только для сырого мяса.

Для этого добавляют 2 см<sup>3</sup> 80% хлористого марганца и 1 см<sup>3</sup> 33% раствора NaOH, затыкают пробкой (избегать образования пузырьков), встряхивают. Через 5 минут бросают в раствор кристаллик подистого калия и добавляют 1 см<sup>3</sup> крепкой соляной кислоты, встряхивают.

Полученную жидкость титруют децинормальным раствором гипосульфита. Каждый кубический сантиметр его, пошедший на титрование, соответствует содержанию 0,8 мг кислорода.

Если при титровании растворенного в воде кислорода обнаружено не будет, то это говорит за сильное загрязнение мяса гнилостными бактериями.

### С п о с о б с м е т и л е н о в о й с и н ъ к о й

В пробирку помещают 5 г измельченного мяса и заливают (до покрытия) дистиллированной водой. Встряхивают и дают постоять 30 минут при комнатной температуре.

Затем добавляют 0,5 см<sup>3</sup> 1% водного раствора метиленовой синьки, перемешивают и покрывают поверхность жидкости слоем стерильного вазелинового масла, перемешивают и ставят в водяную баню или термостат при 45° на 1 час.

Если мясо свежее, то обесцвечивания не наступает. Если мясо находится в начальной стадии гниения, то оно обесцвечивает синьку полностью или частично.

### Исследование консервов

При исследовании как мясных, так и из других продуктов консервов мы ставим себе следующие задачи: а) определение стерильности консервов, б) определение пригодности их для употребления.

Эти две задачи не всегда согласуются, ибо мы можем иметь стерильные консервы, содержащие токсины *V. botulinus* или продукты гниения от употребления для приготовления консервов загнившего мяса. С другой стороны, мы можем иметь нестерильные консервы, употребление которых вполне безвредно и свойства которых нормальны. Причинами порчи консервов могут быть, как только что было указано, употребление для их приготовления испорченного мяса, недостатки стерилизации и укупорки.

Подробные данные о микробах консервов можно найти в «Микробиологии консервов» проф. И. М. Великанова, Снабтехиздат 1935 г.

В случае обследования больших партий консервов пробы отбираются в количестве трех банок от каждой партии однородных консервов, состоящей из банок одного размера.

При исследовании консервов на их пригодность имеются некоторые особенности по сравнению с методикой исследования мяса. Прежде чем приступить к выемке пробы из закупоренной банки консервов, следует: 1) посмотреть, не вздуты ли дно и крышка банки от образования газов внутри ее (следует иметь в виду, что образование газов может иметь место при стерильности консервов благодаря чисто химическим процессам); 2) встряхнуть ее,—при доброкачественных консервах обычно не чувствуется внутри банки никакого дви-

жения (этот признак является далеко не абсолютным, так как встречаются доброкачественные консервы, обнаруживающие движение от причин, ничего общего с испорченностью не имеющих); 3) наконец погрузить банку в горячую (80—90°) воду для испытания целостности банки. В случае если в банке имеются отверстия, из них при погружении в воду будут выделяться пузырьки воздуха. Банки погружаются в воду в стоячем положении сперва одной стороной, потом другой.

При лежачем положении не гарантируется правильное испытание герметичности, так как шов может быть закрыт консервной массой на значительной части своего протяжения.

Выдерживать 1—2 минуты.

При применении этого метода испытания герметичности консервов следует иметь в виду возможность ошибок. Более точный результат получается при испытании герметичности в вакууме, причем шов банки обертывается полоской фильтровальной бумаги. Появление на бумаге пятен от жидкости консервов будет указывать на негерметичность банки. Определение герметичности имеет большое значение при изучении микрофлоры нестерильных консервов. К микрофлоре, обнаруженной в герметичных банках, должен быть другой подход, чем к микрофлоре негерметичных банок.

Если консервы по внешнему виду подозрений не внушают, их можно поместить на 7—14 дней в термостат при 37°. Нестерильные консервы при некоторых видах микроорганизмов дадут вздутие дна. При этом следует различать вздутие от расширения воздуха в консервной банке от вздутия вследствие развития газов. Первое при охлаждении спадает.

Перед посевом банку выдерживают 5 дней в термостате, ежедневно взбалтывая.

## Открытие банки и исследование содержимого

Поверхность банки тщательно вымывается теплой водой с мылом и щеткой и дезинфицируется 20% раствором формалина. Затем сторона, в которой будет проделываться отверстие, тщательно обжигается огнем паяльной лампы.

Открывание производится при помощи простерилизованного в автоклаве консервного ножа с соблюдением всех мер предосторожности от загрязнения. Лучше специальным пробойником, представляющим заостренный с одного конца металлический стержень (толщиной 2 см), снабженный ручкой, укрепленной у тупого конца.

Этим пробойником, тщательно простерилизованным, пробивается отверстие ударом молотка по тупому концу пробойника. Консервы предохраняются от загрязнения воздухом, который иногда при открывании банки втягивается внутрь, помещением перед пробиваемым отверстием пламени паяльной лампы.

Отверстие в банке должно быть достаточно большим, позволяющим свободно и удобно забирать консервную массу для посева. Во избежание загрязнения сейчас же по открывании банки последняя накрывается половинкой стерильной чашки Петри.

Через проделанное отверстие вводят пипетку и ею набирают некоторое количество жидкости и частиц (0,5 см<sup>3</sup> для аэробных и 2 см<sup>3</sup> для анаэробных посевов). Полученную жидкость и твердые частички сеют на чашки с агаром, в бульон в аэробных условиях (и то и другое с 1% глюкозы pH=7,3), в предварительно прокипяченный 20 минут бульон с печенью (см. отдел о посеве на *B. botulinus*) под слой вазелинового масла и сахарный агар высоким слоем (анаэробные условия). Для уничтожения неспороносных микробов можно, сделав посев в дополнительную пробирку, перед помещением ее в термостат прогреть при 80° в течение 20 минут. Все питательные среды, употребляемые для испытания стерильности консервов, должны быть выдержаны в термостате для установления их стерильности.

Аэробные посевы выдерживают в термостате 2—3 дня, а анаэробные до 6—10 дней с ежедневными осмотрами. Этими посевами убеждаются в стерильности или нестерильности консервов (полуконсервы на стерильность не исследуются).

Кроме жидкости таким же образом сеют твердые частички консервов (мясо, рыбу, крупу и пр.). Из аэробных и анаэробных посевов в жидкие среды следует делать пересевы (по прошествии указанного срока выдерживания в термостате) на твердые среды.

Для избежания ошибок от случайных загрязнений рекомендуется засеивать одновременно несколько пробирок и учитывать однородность получаемых результатов.

При бактериологическом исследовании консервов следует иметь в виду наличие в них молочнокислых микробов, часто остающихся в живых после стерилизации, которые на обыкновенных средах расти не будут. Для выделения молочнокислых микробов следует употреблять специальные питательные среды—агар на молочной сыворотке и др.

Равным образом для обнаружения термофильных микроорганизмов следует выдерживать посевы в течение 7 дней при 56°. Среда, употребляемая для посева термофилов, должны быть проверены на стерильность выдерживанием в термостате при 56°.

Большой интерес представляют находки (Горовиц-Власова) микроорганизмов, восстанавливающих сульфаты, могущих дать в продуктах образование сероводорода, без того чтобы имели место процессы гниения с распадом белка.

Определение видов микрофлоры консервов ведется обычным способом. После изучения свойств выделенных чистых культур они определяются по определителю Бергея (*Bergey's Manual of determinative bacteriologie*, III Ed., 1930).

Одновременно готовят мазки для микроскопического исследования. Мазки перед окраской обезжиривают эфиром.

При наличии в посевах грамотрицательных неспороносных палочек последние подвергаются обычному изучению в пестром ряду и реакциями агглютинации для определения их принадлежности к тому или иному виду кишечного-тифозной или гнилостной группы микробов.

Присутствие *Proteus vulgaris* легко обнаруживается по наличию «плывущего» роста.

Результаты микроскопического исследования сравнивают с результатами посевов. Если последние стерильны, а в мазках много микробов, то можно сделать вывод о стерилизации уже испорченных продуктов. Плохая окрашиваемость обнаруживаемых при этом бактерий подтверждает такое заключение. При необходимости исследовать консервы на присутствие патогенных бактерий банки предварительно в термостат не ставятся и из их содержимого делаются посевы способами, указанными для исследования мяса.

Нахождение токсина *V. botulinus* см. стр. 226.

## Оценка результатов бактериологического исследования консервов

Существующий в настоящее время способ стерилизации не может обеспечить абсолютную стерильность всех консервов, и в то же время наличие сапрофитных микробов может иметь место во вполне доброкачественных как по органолептическим свойствам, так и по результатам их употребления в пищу.

Поэтому требование абсолютной стерильности консервов и браковка в случае наличия хотя бы единичных сапрофитных микробов до разработки более совершенных методов стерилизации, обеспечивающих стерильность без ущерба пищевой ценности и вкусовых свойств, не должны иметь места в практике современного контроля.

В соответствии с этим инструкция НКЗдрава от 26/IV 1934 г. требует отсутствия в консервах патогенных микробов, бактерий кишечно-тифозной группы гнилостных и допускает к употреблению консервно-баночную продукцию при наличии в нормально-простерилизованных и абсолютно герметичных банках сапрофитных микробов (типа *V. subtilis* и *V. mesentericus*), не давших бомбажа при 20-дневной термостатной выдержке.

В соответствии с изложенным лишь нахождение таких микробов как *V. botulinus*, паратифозные бактерии, кишечная палочка, протей может служить основанием для браковки консервов.

Нахождение же довольно часто встречаемых спорозоных аэробов, микрококков является поводом для браковки лишь при массивном заражении (что открывается непосредственным посевом на твердые питательные среды) и при условии образования бомбажа при термостатной выдержке.

## Соленые продукты

В соленых продуктах могут быть находимы своеобразные микроорганизмы, иногда вызывающие их порчу. Это так называемые галофильные и галобные микроорганизмы. Первые могут расти на средах с большим содержанием соли—до 20%. Для вторых же присутствие больших концентраций соли является обязательным и на обычных средах они не растут. Интересующимся подробностями можно рекомендовать работы Горовиц-Власовой и ее сотрудников в трудах Ленинградского пищевого института.

Петровой аналогичные микроорганизмы обнаружены в чистой соли. Кроме того ею были обнаруживаемы в соли *V. mesentericus*,

*B. megaterium*, *B. subtilis* и зачастую в больших количествах. В частности ею обнаружен галобный микрококк, вырабатывающий красный пигмент и обуславливающий в некоторых случаях покраснение соленой рыбы.

### Холодные блюда

Различного рода холодные блюда (винегреты, студии, заливные) довольно часто служат источником заражения как холерными вибрионами, так и микробами группы *coli-typhus* (например случай эпидемии в лаборатории боткинских барачков—Ивашинцев, Гартох). По исследованиям Спектор заливка холодных блюд уксусом вопреки распространенному среди населения взгляду не предохраняет от заражения, так как даже холерный вибрион не погибает в течение часа.

Исследования указанных блюд преследуют те же цели, что и исследования других мясных продуктов, и производится таким же образом.

## ГЛАВА ДЕСЯТАЯ

### РАЗЛИЧНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ ЯЙЦА

Зараженные различными патогенными микробами яйца могут явиться, как и другие пищевые вещества, источником заражения для человека. Яйца кур, больных птичьим туберкулезом, содержат соответствующие палочки (*Löwenstein*), но большого практического значения эти находки не имеют (*Fitch*, *Lubbehusen* и др.). При заражении скорлупы яиц материалом, содержащим *V. cholerae asiaticae*, *B. typhi*, *Proteus*, *B. dysenteriae*, все эти микробы могут проникнуть внутрь яиц и существовать там многие дни (*Wilms*, *Lange*, *Rettger*, *Kossowicz*, *Sachs-Mücke*).

Левенштейн обнаружила в несовсем свежих яйцах во время массовых желудочно-кишечных заболеваний в закрытом учреждении бактерии паратифозной группы.

*Scott* описывает две вспышки пищевых заболеваний, где в качестве источника инфекции были установлены яйца. Он же указывает на возможность инфицирования яиц во время копуляции и указывает на находки в яйцах соломинок и песчинок.

Мне пришлось наблюдать вспышку пищевых заболеваний, где единственно возможным источником инфекции был меланж (смесь из яиц). Последний продукт является особенно опасным благодаря легкости развития в нем микроорганизмов. Кроме того в яйцах находим *B. pyocyaneus* (*Artault*), *Staphylococcus pyogenes albus* (*Daumezon*), *B. pullorum* (*Baudette*). Интересен факт большой стойкости яиц с развивающимися зародышами по отношению к бактериальной инъекции (*Ruzicka*). Особых методов для исследования яиц не выработано; исследование производится обычными способами с применением всех мер против возможности посторонних загрязнений.

## ОВОЩИ И ФРУКТЫ

Здоровая, неповрежденная оболочка овощей и фруктов служит надежной защитой от внедрения в их пульпу бактерий, поэтому опасность от употребления овощей с полей орошения чрезвычайно ничтожна. При повреждении же оболочки бактерии легко проникают в разрушенную загнившую часть растения. Ellrodt наблюдал проникание *B. ruosuaueus* внутрь растения через ничтожные повреждения корней. При употреблении овощей приходится главным образом опасаться заражения с поверхности загрязненной водой и пр. На поверхности овощей и фруктов патогенные бактерии, если только они будут защищены от высыхания и света, могут существовать очень долго. Даже холерный вибрион, сравнительно малостойкий микроорганизм, сохраняется по данным Спектор на поверхности овощей и фруктов значительное время:

Овощи и фрукты	Длительность сохранения
Яблоки . . . . .	3—4 дня
Вишни . . . . .	4 »
Груши . . . . .	2 »
Редька . . . . .	12 часов
Молодой лук . . . . .	8—10 час.
Огурцы зеленые . . . . .	8 дней
» соленые . . . . .	4—5 дней
Помидоры . . . . .	24 часа

### По другим авторам

Морковь . . . . .	2—10 дней
Брюква . . . . .	2—9 »
Красная капуста . . . . .	3—20 »
Шпинат . . . . .	6—12 »
Цветная капуста . . . . .	3—15 »

На поверхности разреза продолжительность жизни обычно меньше, в особенности если фрукты содержат много кислоты.

Продолжительность жизни *B. typhi*, *B. paratyphi* естественно будет больше, чем холерного вибриона. Таковы экспериментальные данные, показывающие большую степень опасности передачи кишечных инфекций через фрукты и сырые овощи. В соответствии с этим при исследовании овощей и фруктов в условиях их естественного заражения были находимы патогенные бактерии. Racinotti нашел на клубнях укропа палочки паратифа и дизентерии. По исследованиям Russel на поверхности овощей и фруктов часто находится большое количество экземпляров *B. coli commune*. Загрязнение сильнее в овощах и фруктах из нечисто содержимых магазинов и пр. В сухих овощах Prescott находил целый ряд бактерий водного и почвенного происхождения. По исследованиям Мечникова на овощах и салате в летнее время может усиленно размножаться *Proteus vulgaris*, дающий иногда тяжелые энтериты, особенно у детей. В овощных и фруктовых консервах могут находиться *B. botulinus* и его токсин. Способ исследования овощных и фруктовых консервов на стерильность и *B. botulinus* и его токсины одинаков со способом исследования мясных консервов. Исследование на осталь-

ных патогенных микробов производится так: овощи или фрукты тщательно обмываются в небольших количествах стерильных: а) пептонной воды для нахождения *V. cholerae asiaticus*, б) желчи для нахождения микробов группы *coli-typhus*, в) бульона—для прочих. Среда после этого ставится в термостат для накопления. Дальнейшие исследования—по обычным правилам.

**Томаты.** Prederson обнаружил при исследовании 83 проб испорченных томатных продуктов следующие микроорганизмы: *Lactobacillus lycopersili*, *Bacterium Gayoni*, *Lactobacillus pentosaepticus*, *Bacterium manniflorosum*, *Bacillus pleofructi* и редко дрожжи и спороносные палочки. При хорошей стерилизации консервов все эти микробы погибают.

Перечисленные микробы принадлежат к группе молочнокислых бактерий. Подробное их описание можно найти в «Bulletin New York Agricultural Experiment Station», 1929.

### Квашеная капуста

Нормально процесс квашения производится *Sacharomyces* и различными молочнокислыми микробами (*B. Günsteri*, *B. caucasicus* и др.). При хранении капусты на поверхности ее часто образуются пленки из разных дрожжей и плесеней, которые разрушают молочную кислоту, обуславливающую консервацию капусты; вследствие этого могут начать развиваться и производить соответствующие изменения различные гнилостные микробы (Wehmer).

Колодизнер находил в пленках ленинградской капусты главным образом *Mycoderma vini*.

Из изложенного видно, что исследование квашеной капусты должно иметь целью установление наличия молочнокислых микробов и отсутствие, по крайней мере в большом количестве, гнилостных микробов.

### НАПИТКИ

О продолжительности жизни холерного вибриона и тифозной палочки в различных напитках дает представление следующая таблица:

Напитки	Холерный вибрион	Тифозная палочка
Чай 1% . . . . .	Больше 8 дней	
» 2% . . . . .	1—4 дня	
» 3% . . . . .	Меньше 1 дня	
» 4% . . . . .	» 1 часа	
Какао 1% . . . . .	Больше 7 дней	
» 2% . . . . .	» 7 »	
Кофе 6% . . . . .	Меньше 9 часов	
Пиво . . . . .	» 9 »	2—5 дней
Вино белое . . . . .	» 5 минут	От нескольких
» красное . . . . .	» 16 »	часов до несколь-
» яблочное . . . . .	» 20 »	ких минут
Минеральная вода . . . . .	1—2 дня	До 5 дней

Из таблицы видно, что пиво может служить источником заражения тифозной палочкой. Но до сих пор никому не удалось выделить тифозную палочку из пива при естественных условиях его зараже-



ния. Описания заболеваний от употребления зараженного пива имеются (Voigt и Kling и Petterson). Исследование напитков производится так: большое количество исследуемой жидкости центрифугируется и осадок засеивается в накопительную среду (пептонная вода, желчь и т. д.). Дальнейшее исследование обычно. Смешивание исследуемой жидкости с крепким раствором накопительной среды, например с основным раствором пептонной воды, можно производить лишь в тех случаях, когда в жидкости не содержится никаких веществ, могущих угнетать рост выделяемых микробов.

Для установления титра кишечной палочки производят посевы различных количеств жидкости в среду *Bulir* и т. д., как это было описано для обыкновенной воды. При установлении титра кишечной палочки в пиве, квасе и других напитках, содержавших дрожжи, следует посевы соответствующих количеств жидкости производить в желчь и через 24 часа сделать пересевы на среду Эндо из каждого засеянного количества, далее—как описано для питьевой воды. Причиной ослизнения и выпадения хлопьев в сидро может быть *Leucopostoc* sp. и *B. mesentericus* *vulg.* (см. стр. 247). (Красносельский и Выгор, «Гиг. и эпид.», № 6—7, 1931.)

## ХЛЕБ И МУЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

### Патогенные микробы

Загрязненные с поверхности патогенными бактериями хлеб и кондитерские товары могут явиться источником заражения, так как сохраняемость на них искусственно нанесенных патогенных микробов (при благоприятных в смысле защиты от света и высыхания условиях) довольно велика.

*V. cholerae asiaticae* на черном хлебе сохраняется 1—4 дня (Спектор, Uffelmann), на белом—1—26 дней (Троицкий, Спектор и др.), на кондитерских товарах 1—7 дней. В действительности Howell находил на корке хлеба почти 50% всех исследованных образцов бактерий, имеющих своим источником видимо кишечник человека (*B. coli*, *Proteus*) или слизистую зева (*Streptococcus*). Hansen и Parker описали эпидемию тифа, возникшую от употребления зараженного с поверхности хлеба.

Для выделения патогенных микробов делают соскоб с поверхности (или берут в нужных случаях материал из глубины) и засевают в соответствующие накопительные среды.

### Пьяный хлеб

Хлеб может не только быть передатчиком патогенных бактерий, но и служить причиной отравлений накапливающимся в нем ядовитым веществом—продуктом жизнедеятельности микроорганизмов сапрофитного характера.

Это так называемый «пьяный хлеб», получивший свое название от картины болезни, вызываемой его употреблением.

Через несколько часов после еды появляются дурнота, озноб, сильная головная боль, рвота, расстройство зрения, оцепенение.

Болезнь длится около суток. Отравлению подвергаются не только люди, но и животные. Случаи отравления пьяным хлебом чаще всего наблюдаются в сырых местностях и в дождливые годы.

Отравления эти обуславливаются видимо целым рядом грибов и дрожжей, накапливающих ядовитое вещество. Из них главнейшими являются грибы *Fusarium roseum* Link и *Sacharomyces roseolus* (Воронин, Габрилович, Углов):

Пораженные зерна пшеницы и ржи сморщиваются, и цвет их становится розовым или буровато-красным. При микроскопическом исследовании зерна представляются проросшими нитями мицелия.

Для диагноза выделяют при помощи посевов на кислом сахарном агаре чистые культуры и опытами на животных убеждаются в их ядовитом действии. Для получения ядовитого начала чистыми культурами заражаются колбы с влажными простерилизованными зернами и выдерживаются при комнатной температуре до 3 недель. Ядовитое начало можно получить извлечением его 60° спиртом в продолжение 3 суток при постоянном помешивании (признаки и дифференциальную диагностику грибов см. Янчевский, «Определитель грибов»).

### Тягучая болезнь хлеба

Иногда выпеченный хлеб резко меняет свои нормальные свойства. Он становится вязким, тягучим, появляется неприятный запах, на изломе видны нити.

Такое изменение свойств хлеба обуславливается некоторыми спороносными микроорганизмами.

Из них находили: *B. mesentericus vulgaris* (Watkins, Kayser, Delaval, Суражевская-Васильева, Феркель), *B. mesentericus viscosi* (Омелянский, Суражевская-Васильева, Феркель), *B. subtilis* (Neumann, Феркель).

Методика исследования на возбудителя тягучей болезни хлеба следующая: кусочек пораженного хлеба растирается и взвесь засевается на чашки обыкновенного агара (3—4 чашки последовательно). Лучше засеять не хлеб, а муку (Феркель). По Суражевской-Васильевой 1 г муки растирается с 30—50 см<sup>3</sup> стерильной воды и засевается на агар.

Выращивание производится при 37°. В случае присутствия возбудителей тягучей болезни хлеба вырастают довольно большие грубые складчатые, сухие или слизистые колонии, состоящие из грамположительных палочек.

Идентификация производится посевом в пестрый ряд по следующей таблице (стр. 247).

Для установления у выделенного микроба способности вызывать тягучую болезнь хлеба чистой культурой заражают здоровый хлеб. При этом должны получиться соответствующие изменения. В качестве профилактических мер против заболевания хлеба, приготовленного из зараженной муки, рекомендуется: 1) хорошо пропекать хлеб, 2) производить выпечку зимой, 3) добавлять 0,3% молочной кислоты. Подробности о тягучей болезни хлеба см. Николаев, «Микробиология болезней хлеба», 1932 г., Снабтехиздат.

**Свойства возбудителей тягучей болезни хлеба  
(спороносные палочки)**

	B. mesentericus			viscosi II		B. subtilis	
По Граму	vulgatus						
Подвижность	+			+		+	
Желатина	+			—		+	
	Разжижается			Пептонизируется		Не свертывается	
Молоко	Свертывается						
Индол	Не образуется						
Сероводород	Не образуется			следы не всегда			
Образование газа в виноградно-сах. бульоне	Не образуется						
Кислоотообразование	{	Глюкоза	+	+	+		
		Сахароза	+	+	+		
		Крахмал	+	—	+		
Рост на агаре	Складчатый			Слизистый		Складчатый	
Восст. нитр.	—			+		+	

## ГЛАВА ОДИННАДЦАТАЯ

# СТАНДАРТИЗАЦИЯ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ СРЕДСТВ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ДЕЗИНФЕКЦИИ

## ДЕЙСТВИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ АГЕНТОВ НА МИКРОБОВ

Под дезинфекцией мы понимаем уничтожение возбудителей различных болезней.

Следует различать следующие степени воздействия на микробов дезинфицирующих агентов:

1. **Митигирующее действие.** Микробы остаются в живых, способны к размножению, но их патогенные и ферментативные функции резко ослаблены. Обычно свойства эти быстро восстанавливаются.

2. **Антисептическое действие.** Микробы остаются в живых, но неспособны к размножению, пока агент действует на них. При прекращении действия агентов тем или иным способом микробы могут давать рост.

3. **Неполная стерилизация.** Убиваются вегетативные формы, но не споры.

4. **Полная стерилизация.** Убиваются все вегетативные и спороносные формы микробов.

Принцип бактериологического контроля дезинфекции очень прост.

Ту или иную культуру микроорганизма подвергают действию дезинфицирующего агента, действенность которого изучается или про-

веряется, и затем убеждаются в гибели или выживании взятых микроорганизмов путем соответствующих посевов.

Несмотря на простоту принципа практическое выполнение бактериологического контроля производства дезинфекции и стандартизация дезсредств являются чрезвычайно сложной задачей. Нельзя для определения дезинфекционных свойств того или иного агента просто подействовать на определенного микроба скажем различными разведениями агента и последующими посевами определить бактериеубивающую концентрацию.

Для точного выяснения действительной пригодности данного дезинфицирующего агента и получения сравнимых результатов необходимы большая точность и кропотливость во всех манипуляциях, а главное—учет самых разнообразных условий, могущих влиять в ту или другую сторону на проявление дезинфицирующего действия.

Факторами, влияющими на результаты действия дезинфекционного агента, могут быть:

1. Вид микробов. Сюда относится общеизвестная разница в стойкости споровых и неспоровых видов. Кроме того некоторые микробы обладают элективной чувствительностью к действию определенных антисептиков. Например формальдегид оказывает сильное действие на бацил сибирской язвы, превосходящее таковое на других споровых бактерий (Paul и Prall).

В то же время формальдегид очень слабо действует на туберкулезную палочку, даже по сравнению с некоторыми вегетативными некислотоупорными видами бактерий (Anders).

Карболовая кислота обладает большим бактерицидным эффектом по отношению к *B. typhi*, чем к *B. coli*. Карболовая кислота, крезол и жидкость Dakin разрушают быстрее стрептококков по сравнению со стафилококками.

*B. ruosseus* почти нечувствителен к жидкости Dakin и чувствителен к формальдегиду (Morgan) и к алкоголю. Последний же при известных условиях не оказывает никакого действия на стрептококка.

Флавин специфичен для стрептококка, оптохин—для пневмококка и т. д.

Поэтому в протоколах нужно обязательно отмечать, с каким именно видом поставлен опыт.

2. Наличие резистентных форм. Один и тот же вид и даже штамм микроба может обладать при различных, не поддающихся часто учету условиях различной стойкостью по отношению к воздействию дезинфицирующих агентов. Спорозоные микробы в их вегетативном состоянии значительно менее устойчивы, чем в спорозоном. Образование капсулы некоторыми микробами также ведет к значительному увеличению стойкости данного штамма.

Даже у неспороносных микробов стойкость к действию дезинфицирующих агентов в каждый данный момент уже будет иной, чем в предшествующий в зависимости от стадий развития микробных клеток и перемены внешних условий существования.

Различные формы (варранты), наблюдаемые при диссоциации культур, различны по своей стойкости: S-форма менее устойчива, чем R-форма.

Одна и та же взвесь микробов может содержать среди особей, ее составляющих, экземпляры, резко отличающиеся по своей стойкости от массы всех остальных микроорганизмов.

Если взять густую взвесь микробов, то она окажется более стойкой, чем более слабая. Такое явление между прочим объясняется тем, что экземпляры, выдающиеся по своей стойкости, встречаются крайне редко (1 на 100 000 остальных микробов). Поэтому только достаточно густые взвеси содержат их и обнаруживают вследствие этого большую устойчивость, чем жидкие, редко содержащие максимально стойкие формы (Hailer, Supfle, Pathoff).

Вышеуказанное заставляет брать для опытов возможно большее количество разнообразных видов бактерий и выбор штаммов производить после тщательного изучения их стойкости при различных условиях.

3. Состав и состояние среды. Сила действия дезинфицирующих веществ в значительной степени зависит от состава и состояния среды, в которой она проявляет свое действие.

Кроме общеизвестного факта ослабления бактерицидного эффекта сулемы в присутствии белка можно привести многочисленные наблюдения над изменением действия и других агентов в различных по своему составу средах. Имеют значение величина рН среды, концентрация солей, содержание тех или иных органических веществ и т. д.

Для доказательства этого положения приведу результаты ряда опытов.

Опыт Nicolle и Joann. Взвесь 24-часовой (37°) агаровой культуры стафилококков, взвешенная в бульоне, разливалась по 1 см<sup>3</sup> в две пробирки, содержащие по 10 см<sup>3</sup> нормальной сыворотки. Затем в одну добавлялось антисептическое вещество, а другая оставлялась для контроля. Через 2 часа делались высевы на чашки с агаром для определения числа вырастающих колоний.

Результаты были получены следующие:

Антисептическое вещество	Разведение	Число колоний	
		опыт	контроль
Kristallviolett . . . . .	1 : 40 000	0	5 000
Brillantgrün . . . . .	1 : 40 000	2 000	5 000
Malachitgrün . . . . .	1 : 40 000	4 800	4 000
Hydrargyrum cyanatum . . . . .	1 : 10 000	0	4 000
Argentum nitricum . . . . .	1 : 10 000	0	4 000
Auramin . . . . .	1 : 40 000	3 500	4 000
Formaldehyd . . . . .	1 : 4 000	16	4 000

В опыте употреблялись такие разведения дезинфицирующих агентов, которые в чистых растворах показывали бактерицидное действие.

Из этого опыта видно, что в то время как Kristallviolett, Hydrargyrum cyanatum, Argentum nitricum и Formaldehyd в присутствии сыворотки проявили полную или почти полную бактерицидность, Brilliantgrün и Auramin дали резко ослабленный эффект, а Malachitgrün вовсе оказался бездейственным.

**Опыт Dakin и Daufresne.** Различные разведения дезинфицирующего агента действовали 2 часа при комнатной температуре на культуру стафилококка: а) взвешенную в дистиллированной воде и б) взвешенную в смеси разных частей дистиллированной воды и сыворотки, после чего был сделан высев для определения бактериеубивающей концентрации. Результаты опыта:

А г е н т	Дистиллированная вода	Сыворотка	Отношение
Карболовая кислота . . .	1 : 250 — 1 : 500 +	1 : 50 — 1 : 500 +	1 : 5
Салициловая кислота . .	1 : 2 500 — 1 : 5 000 +	1 : 100 — 1 : 250 +	1 : 25
Иод . . . . .	1 : 100 000 — 1 : 1 000 000 +	1 : 1 000 — 1 : 2 500 +	1 : 100

Опять и здесь от присутствия сыворотки бактериеубивающая сила уменьшилась в 5—100 раз.

Далее из опытов Bertrand видно, что формалдегид в присутствии мочевины оказывается бездейственным, в то время как хлорпикрин ничуть не ослабляет своего действия.

Здесь можно привести таблицу, характеризующую изменение фенолового коэффициента при производстве его определения в присутствии и отсутствии органических веществ (по Philbrick).

М и к р о б	№№ образцов каменноугольных смол			
	I	II	III	IV
<i>B. typhi</i>				
Без органич. веществ . . . . .	3,2	6,5	10,0	19,0
То же с органич. вещ. . . . .	2,9	5,8	9,0	17,0
<i>Staphylococcus aureus</i>				
Без органич. веществ . . . . .	0,8	1,4	2,2	5,0
То же с органич. вещ. . . . .	0,7	1,3	1,8	4,9
<i>B. diphteriae</i>				
Без органич. веществ . . . . .	2,3	4,5	7,3	18,0
То же с органич. вещ. . . . .	1,6	3,5	5,3	14,0
<i>Str. haemol.</i>				
Без органич. веществ . . . . .	2,2	4,4	6,7	16,0
То же с органич. вещ. . . . .	1,7	3,5	5,3	12,0
<i>Pneumococcus</i>				
Без органич. веществ . . . . .	3,3	6,6	10,0	23,5
То же с органич. вещ. . . . .	3,0	6,1	9,4	17,5

Все это указывает на значительное изменение бактерицидного действия по сравнению с чистыми растворами не только сулемы, но и многих других веществ в присутствии белка и даже более простых органических и неорганических соединений. Такое явление застав-

ляет нас при опытах контроля дезинфекции принимать все меры к созданию для микробов условий, возможно более приближающихся к естественным.

Рекомендуется добавлять к чистым культурам бактерий группы *coli-typhus* высушенные стерилизованные испражнения (Левашев, Порков, Горенский, Златогоров), к культурам гноеродных бактерий — сыворотки или употреблять не чистые культуры, а гной.

При контроле дезинфекции для уничтожения *B. tbc* употребляют не чистые культуры, а туберкулезную мокроту.

Bollinger и Dawin уже давно предложили употреблять кусочки ваты, пропитанные кровью сибиреязвенных животных и т. д.

4. Далее следует учитывать возможность стимулирующего действия больших разведений на рост микробов.

Такая стимуляция бывает возможна, когда в бульон при посеве попадут ничтожные следы антисептика, а получившееся разведение может действовать по закону Кравкова стимулирующе.

5. Явление привыкания к дезинфицирующим веществам также надо иметь в виду в некоторых случаях, когда это привыкание может иметь место в силу тех или иных условий опыта.

## ВЫБОР КУЛЬТУР ДЛЯ КОНТРОЛЯ ДЕЗИНФЕКЦИИ

Выбор культур имеет большое значение для успешности работы.

В зависимости от цели дезинфекции и того, какая дезинфекционная установка контролируется, мы берем в одних случаях спороносные культуры высокой стойкости, например споры садовой земли — для контроля полной стерилизации, или спороносные культуры меньшей стойкости, например споры *B. anthracis* — для контроля обеззараживающего действия на сибиреязвенный материал. Для контроля работы пароформалиновых камер употребляют кроме спор *B. anthracis* стойкие кокковые формы, например *staphylococcus*, культуры *B. coli*, *B. typhi*, *B. ruosynaeus* и наконец туберкулезную мокроту.

Следовательно выбор культуры той или иной стойкости зависит от рода дезинфекционной камеры или дезинфекции. Например мы не будем брать для контроля жилищной формалиновой дезинфекции культуры спороносных микробов, так как они все равно не будут убиты.

Далее для пароформалиновой камеры нет смысла брать споры садовой земли; это значило бы предъявлять камере невыполнимые требования.

Наконец при выборе культур мы руководствуемся характером заразного агента, подлежащего уничтожению. Под дезинфекцией мы понимаем лишь уничтожение в каждом данном случае того заразного агента, против которого мы ведем борьбу, и нам вовсе не надо добиваться уничтожения всех микробов, ибо это в огромном большинстве случаев невозможно, ненужно и даже вредно отражается на вещах, подвергаемых дезинфекции.

Итак, если мы производим жилищную дезинфекцию против дифтерии, контролем у нас должна быть палочка дифтерии или стафилококк.

Если мы дезинфицируем белье и вещи туберкулезного больного, то для контроля берем туберкулезную мокроту и т. д.

По возможности следует выбирать микроорганизмы, рост которых в бульоне является достаточно характерным, чтобы мы без точной идентификации выделением чистых культур и пр. могли быть уверенными в росте именно опытной культуры, а не случайного загрязнения, и в то же время культуры эти не должны быть очень широко распространены в природе, так как в таком случае они случайно могут быть источником загрязнения опыта.

Такими характерными культурами является *B. anthracis* (рост на дне прозрачного бульона в виде хлопка ваты), *B. pyocyaneus* (на соответствующей среде обязательное образование пигмента), *Streptococcus* (рост на дне), *B. coli* (при посеве в среду с лактозой, брожение) и т. д.

Но вместе с тем мы должны остерегаться употреблять для широкого контроля дезинфекции патогенные культуры, так как тест-объекты могут находиться в руках недостаточно подготовленных дезинфекторов, поэтому например *B. anthracis* рекомендуется заменять *B. anthracoides*, выбрав штамм, растущий также на дне пробирки с бульоном и т. д.

Для большей надежности контроля следует не ограничиваться одним видом микроба, а употреблять несколько видов.

Во Франции для контроля дезинфекции употребляются следующие микроорганизмы: *B. dysenteriae*, *B. coli*, *Staphylococcus*, туберкулезная мокрота—всегда; споры *B. subtilis*, споры *B. anthracis*—при специальных заданиях. Такой набор культур может быть рекомендован для повседневной практики.

В некоторых специальных случаях приходится брать для контроля специальные организмы, например споры домового гриба при контроле дезинфекции против него и т. д.

Употребление при контроле каждой дезинфекции обязательно микроорганизмов, для уничтожения которых производится процедура, нерационально, ибо требует большого набора разных тест-объектов и при дезинфекции против малостойких микробов уменьшает гарантию успешности, получаемую от употребления тест-объектов с микробами максимальной стойкости среди вегетативных форм, какими являются вышеперечисленные. Например большую уверенность в успехе дезинфекции против холеры дает умерщвление более стойкой *B. coli*, чем сравнительно слабого *V. cholerae asiaticum*.

Характеристику стойкости различных культур см. таблицу на стр. 254.

#### Задержка роста различными химическими веществами (по Park)

Вещество	Разведение, задерживающее рост бактерий
Aluminium . . . . .	1 : 222
Aluminium aceticum . . . . .	1 : 6 000
Ammonium chloratum . . . . .	1 : 9
Acid. boricum . . . . .	1 : 143
Calcium chloratum . . . . .	1 : 25
» hypochloratum . . . . .	1 : 1000
Acid. carbolicum . . . . .	1 : 333
Chloral-hydrat . . . . .	1 : 107



Cuprum sulfuricum . . . . .	1 : 2000
Ferrum sulfuricum . . . . .	1 : 200
Formaldehyd . . . . .	1 : 10000
Hydrogenium peroxyd . . . . .	1 : 20000
Hydrarg. chloratum . . . . .	1 : 14300
» jodatum . . . . .	1 : 40000
Kalium bromatum . . . . .	1 : 10
» jodatum . . . . .	1 : 10
» hypermanganicum . . . . .	1 : 300
Formaldehyd (чистый) . . . . .	1 : 25000
Chininum sulfuricum . . . . .	1 : 800
Argentum nitricum . . . . .	1 : 12500
Natrum boricum . . . . .	1 : 14
» chloratum . . . . .	1 : 6
Zincum chloratum . . . . .	1 : 500
» sulfuricum . . . . .	1 : 20

По выборе тех или иных видов микроорганизмов мы должны изучить их устойчивость по отношению к разным физическим и химическим факторам, выбирая последние по возможности более подходящими к условиям дезинфекции, подвергающейся контролю.

Например если мы контролируем действие чисто паровой камеры, то мы изучаем стойкость выбранных нами культур к температурному воздействию; если контроль имеет целью формалиновую дезинфекцию, то проверяется стойкость культур к формалину; наконец если предполагается определить бактерицидную силу того или иного раствора дезинфицирующего состава неизвестной силы, то проверяется стойкость культур по отношению к хорошо изученным дезинфицирующим веществам, по своей химической природе стоящим возможно ближе к исследуемому агенту (в последнем случае лучше всего пользоваться определением карболового и других коэффициентов по Rideal-Walker) и т. д.

Определение такого рода стойкости можно предварительно проделать с чистой культурой, взвешенной в воде, но в дальнейшем обязательно следует определить ее стойкость в среде, наиболее соответствующей той, в которой находится микроб—возбудитель того заразного заболевания, по поводу которого делается дезинфекция (мокрота, добавление взвеси стерильных faeces, белка, сыворотки и т. д.).

Если речь идет об изучении нового дезинфицирующего раствора, то ставят опыты определения действия его на данный микроб при всевозможных условиях. Методика определения стойкости микроорганизмов, к описанию которой мы переходим, может быть употреблена также с целью определения сопротивляемости по отношению к различного рода воздействиям физического и химического порядка при изучении вновь открытых микроорганизмов.

## ПРИГОТОВЛЕНИЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТОЙКОСТИ МИКРОБОВ И КОНТРОЛЯ ДЕЗИНФЕКЦИИ

Существует несколько методов введения в опыт культуры, служащей для контроля.

### Метод взвесей

Выбранная культура взвешивается в воде чистой или с добавлением тех или иных органических соединений и пробирки со взвесью

# Стойкость микроорганизмов к нагреванию и

Микроорганизм	Температура						
	Температурная точка смерти	50°	60°	70°	80°	90°	100°
Staphylococcus . . .	62°	90'	10—20'	20—60°	2—5''	—	—
Streptococcus . . .	54°	—	—	1—2 ч.	—	—	—
Pneumococcus . . .	52°	—	1/2—30'	2—10''	1''	1'	30''
	60°	—	5'	1—3'	1'	—	—
Gonococcus . . .	45°	неск. часов }	—	—	—	—	2,5—5'
M. melitensis . . .	60°		10'	—	—	—	—
	57,5°	—	10—20'	—	—	—	—
			1—3'	5—10''	—	—	—
			10'	10'	1''	—	—
B. dyphtheriae . . .	60°	—	45'	20'	—	—	—
	50°	—	1—5'	20'	—	—	—
B. typhus . . . . .	56°	45'	2'	3—20''	1''	—	—
			15'		—	—	—
B. paratyphus . . .	57°	—	—	—	—	—	—
B. enteritis . . . .	—	30'	1—5'	5—30''	1''	—	—
			3—10'	2'	—	—	—
B. dysenteriae . . .	60°	45'	8'	3—10''	1''	—	—
			10'	—	—	—	—
B. coli . . . . .	60°	—	3'	—	3''	—	—
B. pyocyaneus . . .	56°	—	—	5'	1'	—	—
B. tuberculosis . . .	60°	—	4 ч.	1/2—1 ч.	15'	5'	1—2'
B. malei . . . . .	55°	—	10'	—	5'	—	—
B. pestis . . . . .	55°	—	1 ч.	10'	5'	—	1'
			10'	—	30'	—	—
B. pertussis . . . .	54°	—	10—15'	—	—	—	—
B. influenzae . . . .	55°	15—25'	10—15'	—	—	—	Немедл.
V. cholerae . . . .	52°	1—5'	1'	3''	—	—	—
			10'		—	—	—
B. tetani (споры) . .	100°	—	—	—	—	—	5'
B. anthracis (споры)	95°	—	—	—	—	—	5—10'
B. botulinus (споры)	80°	—	—	—	—	15—30	—
Вирус бешенства	50—60°	15—20'	15'	5'	—	—	2'
Вирус-вакцина . . .	—	—	15'	—	—	—	—

1 Составлена на основании экспериментов многих авторов по литературе 1884—1923 гг.,

к химическим веществам (по Park)<sup>1</sup>

Сухой жар	Химические вещества				
	фенол 1—5%	сумема 1 : 1 000	лизол	формал-дегид	
2 ч.—110° 10'—150°	2,5' 15' 35'	—	1%—30' 4%—1' }	5 ч.	Protagol 1— 1,15%—10'
—	45'—2 ч.	—	0,5%—15'	7 ч.	
30''—100°	1'	1'	—	3,5 ч.	
—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	
2 ч.—80°	—	—	—	—	
—	10'	1'	—	4 ч.	
10'—140°	—	—	1%—5'	5 ч.	
2 ч.—100°	—	—	—	4 ч.	
10'—140°	—	—	—	5 ч.	
—	—	—	1%—10'—20'	—	
—	7'	—	20' }	—	
2 ч.—80°	—	—	—	—	
10'—120°	30'	Немедленно	1%—1'	—	
2 ч.—100° }	15'	2'	1%—20'	—	
10'—140° }					
1 ч.—120°	5'	—	5'	5 ч.	
20—45'—100°	24 ч. 48 ч.	6—8 ч. } 24 ч. }	3—24 ч.	3,5 ч.	
—	5'	—	—	—	
—	1 ч.	1 ч.	2 ч.	6,5 ч.	
—	1—10'	Несколько секунд }	1%—5'	—	
—	—		—	—	
—	30''	5''	1% немедл.	—	
10'—100°	5'	1—2 000 000 5—10'	—	—	
—	15 ч.	3 ч.	—	Более 15 ч.	
2 ч.—120°	5 ч.	6—12 ч.	7 ч. }	7 ч.	
10'—170°	—	—	—	15 ч.	
—	24 ч.	—	—	—	
—	5—6 ч.	—	—	0,1—0,4% 2—6 ч.	
—	—	5'	—	30'	

Поэтому результаты не всегда сходны.

подвергаются тому или иному воздействию, после чего делается высеивание на жидкие или плотные среды.

Метод этот имеет ряд существенных недостатков, и поэтому в настоящее время находит себе применение лишь в ограниченном числе случаев.

Во-первых, он технически неудобен для широкого пользования на практике контроля дезинфекции благодаря непереносимости такого рода тест-объектов.

Во-вторых, имеется большая возможность ошибок, так как лишь при достаточной степени густоты взвеси будут иметься стойкие экземпляры. С другой стороны, надо иметь в виду, что слишком густые взвеси становятся очень устойчивыми, так что например 1% карболовая кислота вообще не в состоянии убить очень густую взвесь стафилококков (Hailer и Supfle). Pathoff рекомендует для выбора подходящей густоты взвеси готовить ниспадающие разведения и брать такую густоту, начиная с которой сокращение времени, необходимого для убивания культуры, начинает обнаруживать пропорциональность, но не менее 100 000 микробов в 1 см<sup>3</sup>.

Трудность получения однородных взвесей (а неоднородность может повести к ошибкам) и нестойкость взвесей (даже многие спороносные микробы погибают в них по Tiker в 9—14 дней) еще более уменьшают значение этого метода. Такая сложность и ненадежность метода и повели к замене его другими методами.

### Метод зараженных объектов

В настоящее время пользуется гораздо большим распространением метод зараженных объектов.

Из выбранной культуры готовится густая взвесь, которой заражаются различные объекты: шелковые нити (Kox), кусочки фильтровальной бумаги, кусочки батиста, стеклянные бусы, богемские гранаты и пр. (Paul и Krönig).

Для двух последних взвесь готовится густой—в 100 млн. микробов в 1 см<sup>3</sup>, для кусочков батиста, нитей, бумаги и пр.—в 2—3 млрд.

В настоящее время в Институте Пастера в Париже употребляются кусочки фильтровальной бумаги (вообще широко распространяющийся сейчас как материал для тест-объектов).

Дезинфекционным отделением Reichsgesundheitsamt в Берлине употребляются для пропитывания бактериями самые различные материалы, по возможности те, с которыми приходится иметь дело на практике: кусочки сукна разных сортов, бумажной, шерстяной, смешанной, шелковой ткани, дерева различных пород, шнур и пр.

Для осуществления контроля действия дезинфекции такой метод индивидуального подхода к материалу для приготовления тест-объектов следует признать наиболее целесообразным и обеспечивающим максимум успешности.

Пропитывание или покрытие взвесью тех или иных объектов производится погружением их во взвесь микробов на 10—15 минут с повторным встряхиванием. Согласно вышеуказанным соображениям рекомендуется к взвесям перед пропитыванием ими объектов добавлять равный объем стерильной бычьей или какой-либо другой сыво-

ротки. В таких случаях взвеси следует готовить в 2 раза гуще, чем обычно.

Лучше всего применять параллельно тест-объект с сывороткой и без нее.

Не следует брать слишком много объектов сразу, а то они легко слипаются целыми партиями и неравномерно пропитываются.

После пропитывания бусы и гранаты непосредственно, а остальные объекты после обсушивания стерильной фильтровальной бумагой высушиваются в эксикаторе.

Некоторые авторы рекомендуют, особенно для нестойких вегетативных форм, высушивание в термостате и потом при комнатной температуре. Высушиваемые объекты должны все время находиться в темноте.

После высушивания получаемые объекты, которые обычно и называются тест-объектами, закладываются либо в стерильные стеклянные трубочки, заткнутые ватой с обеих сторон, либо в конвертик из бумаги, и тест-объекты после соответствующего контроля стойкости и жизнеспособности нанесенных на них микроорганизмов готовы к употреблению.

Различные материалы для тест-объектов обладают различными достоинствами и недостатками.

Предложенные Кохом шелковые нити (лучше употреблять плетеный, а не крученный шелк) обладают сильной адсорбционной способностью, и поэтому оказались не особенно пригодными при испытании различных дезинфицирующих растворов. Причиной этого является трудность вымывания и нейтрализации остатков дезинфицирующего вещества с шелковых нитей.

При употреблении отрезков шелковых нитей рекомендуется производить предварительное обезжиривание (взбалтывание в течение 30 минут в эфире) с последующей стерилизацией сухим жаром. Такая обработка материала несколько исправляет его недостатки.

С бус и гранатов очень легко смываются бактерии во время промывания и нейтрализации, причем смывание это может быть неравномерным.

Остальные материалы обладают теми же недостатками, но в более слабой степени.

Но все эти недостатки за исключением недостатков метода взвесей относятся к работе по стандартизации и контролю действия различных дезинфицирующих веществ.

При контроле физической или химической газовой дезинфекции и определении стойкости к ней микроорганизмов можно брать в конце концов любые тест-объекты.

Предпочтительнее однако пользоваться тест-объектами из материала, наиболее подходящего к тому, на котором при применении дезинфекции на практике придется убивать заразное начало.

Для лабораторных опытов определения стойкости лучше пользоваться шелковыми нитями или тонко нарезанной фильтровальной бумагой. При необходимости пользоваться тест-объектами для проверки действия дезинфицирующих растворов лучше всего применять кусочки батиста, так как батист обладает меньшей адсорбцией по сравнению с шелком и в то же время достаточно прочно удерживает бактерий.

Для большинства опытов в приборах применение тест-объектов, вложенных в трубки или конвертики, технически затруднительно из-за их громоздкости. Поэтому можно пользоваться голыми тест-объектами, доставая их стерильным пинцетом из банки, где они хранятся.

В таких случаях проволочные сетки или спирали до их помещения в приборы (см. ниже) должны быть простерилизованы прокаливанием.

Естественно, что и при испытании стойкости к дезинфицирующим растворам также пользуются голыми тест-объектами.

### Приготовление взвесей микробов

При приготовлении взвеси из спорозонного микроба берется культура не моложе 2-дневной, содержащая достаточное количество спор, для чего предварительно она проверяется мазками и только при наличии большого количества спор употребляется для приготовления взвеси. Для взвесей же вегетативных микробов употребляются свежие 24-часовые культуры.

Смывание культур производят стерильной водопроводной водой или физиологическим раствором. Последний нехорош тем, что при подсыхании влажных тест-объектов получается сильная концентрация соли, убивающая часть микробов (особенно неспорозонных) и резко влияющая на стойкость микробов тест-объекта.

Дистиллированная вода также не рекомендуется, так как она действует разрушающим образом на многие бактерии.

Смывание производится следующим образом: в пробирку с культурой наливают до высоты косого агара половину воды и, если культура не смывается сама по себе, соскабливают ее при помощи платиновой петли. После соскабливания встряхиванием добиваются возможной гомогенности взвеси.

Непосредственно перед употреблением взвесь может быть профильтрована для большей однородности через бумажный фильтр.

Необходимо готовить взвеси всегда одинаковой густоты.

Для обычных тест-объектов из бумаги, шелковых нитей, батиста и пр. употребляют взвеси с содержанием 2—3 млрд. микробов в  $1\text{ см}^3$ .

Для установки густоты от приготовленной взвеси отливается  $1\text{ см}^3$  в пробирку с диаметром, равным диаметру пробирки со стандартной взвесью, содержащей 2 млрд. микробных тел в  $1\text{ см}^3$  (можно выписывать готовыми из Центрального института контроля сывороток и вакцины; Москва, Сивцев Вражек, 41). Если приготовленная взвесь жиже, следует добавить еще культуры; если гуще, то разбавляют физиологическим раствором, прибавляя последний постепенно и учитывая его количества. Когда густота взвесей сравнивается, по количеству пошедшего на разбавление  $1\text{ см}^3$  взвеси физиологического раствора вычисляют количество его, потребное для разбавления до надлежащей густоты всего количества взвеси.

Вычисленное количество физиологического раствора добавляется к взвеси, и последняя готова к употреблению.

## Приготовление тест-объектов из туберкулезной мокроты

Туберкулезная мокрота прежде всего проверяется на содержание палочек туберкулеза. Следует употреблять лишь мокроту, содержащую очень большое количество палочек, 10—15 и более, в поле зрения.

Такой мокротой пропитываются квадратики фильтровальной бумаги, затем идет высушивание и т. д., как и при обычных тест-объектах.

Некоторые рекомендуют кроме того определять количество живых микробов во взвеси при помощи посева, для чего определенное разведение в определенном количестве засеивается в агар и далее определяется количество микробов, как это было указано при исследовании воды.

Конечно такой метод испытания более целесообразен, но практически неприменим, так как взвесь должна быть употреблена сразу и не может ждать результатов посева. Как контрольное испытание, производящееся параллельно с приготовлением тест-объектов, этот метод безусловно хорош.

## УКУПОРКА, ХРАНЕНИЕ И КОНТРОЛЬ ГОДНОСТИ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ

Приготовленные вышеописанным образом тест-объекты испытываются на стойкость в лабораторных условиях к воздействиям того порядка, которые они предназначены контролировать, и затем пускаются в дело.

Тест-объекты из спороносных микробов могут храниться долго (иногда годами); из вегетативных микробов—лучше всего употреблять свежими в день приготовления.

При необходимости можно готовить впрок и объекты из неспоронных микробов (например для рассылки в места, имеющие дезинфекционные установки, но не имеющие лабораторий), но во все время их употребления тщательно проверять сохранение жизнеспособности в контрольных тест-объектах, хранящихся в лаборатории. По приготовлении серии тест-объектов не менее 10 штук должны быть засеяны для контроля на способность прорастания. Все 10 посевов должны дать рост.

Готовые тест-объекты рассылаются по местам дезинфекционных установок и снабжаются номером серии, датой изготовления и указанием на вид и стойкость микроорганизма тест-объекта.

Рекомендуется для отличия разных тест-объектов употреблять разноцветные трубочки или конвертики.

Например: белый—*B. anthracis*, синий—*B. coli*, желтый—*st. phyllosoccus*.

Хранение тест-объектов должно производиться в темном месте и ни в коем случае не в кладовой, где хранятся дезинфекционные средства, так как, испаряясь, последние (например формалин) могут при длительном воздействии ослабить стойкость и даже убить микробов в тест-объектах. Я наблюдал такого рода явление при контроле дезинфекции на Октябрьской ж. д. Посевы контрольных тест-объектов, хранившихся в лаборатории, давали регулярно рост, а контроли тест-объектов, хранившихся при дезинфекционных установках на линии,

быстро после приготовления перестали давать рост. При расследовании оказалось, что тест-объекты хранились вместе с дезинфекционным средством; при устранении этого дефекта дело наладилось.

Вышеприведенное заставляет нас при работе с тест-объектами постоянно производить контрольные посевы.

Часть серии оставляется в лаборатории и регулярно засеивается для контроля; спороносные засеиваются 1 раз в 1—2 недели, а неспороносные 2 раза в неделю. Кроме того каждая партия тест-объектов после контроля камер и дезинфекции обязательно поступает в лабораторию в сопровождении контрольных тест-объектов, хранившихся в тех же условиях, как и бывшие под опытом.

Следует особенно тщательно и часто производить контроль тест-объектов из неспороносных микробов, так как сохраняемость их даже в хорошо высушенных тест-объектах колеблется в широких пределах; я наблюдал гибель одних серий тест-объектов из *V. coli* лишь после 6 (!) месяцев хранения, а другие погибали уже через 2 недели. Поэтому неспороносные тест-объекты должны возобновляться каждые 1—2 недели.

Тест-объекты, приготовленные из одной взвеси, составляют серию. Каждая серия под своим номером записывается в лабораторный журнал со всеми данными, касающимися культуры, особенностей приготовления тест-объектов и их стойкости, а также времени изготовления, производства контроля, количества изготовленных тест-объектов. Сюда же впоследствии присоединяются записи контрольных посевов, производимых в лаборатории регулярно, и т. д.

### **Испытание стойкости тест-объектов к нагреванию**

Определение стойкости производится либо для выверки качества приготовленной серии тест-объектов или выбора культуры надлежащей стойкости для тест-объектов.

При спороносных культурах мы проверяем уже готовые тест-объекты до выпуска их в работу; при неспороносных культурах предварительно изучается стойкость культуры, затем по приготовлении свежих тест-объектов они немедленно идут в работу и параллельно ставится контрольное определение их стойкости.

Испытание стойкости тест-объектов по отношению к действию пара при температуре более 100° под давлением. Тест-объекты помещают в автоклав и выдерживают при определенном давлении в течение положенного для испытания срока, после чего тест-объекты вынимают и вносят в питательную среду для проверки их стерильности.

При необходимости испытывать стойкость тест-объектов при разных давлениях и в течение разных сроков испытание становится сложным и требует долгого времени, так как для каждого опыта надо пускать автоклав.

Но обычно испытание стойкости тест-объектов даже спороносных в автоклаве не производится, так как большинство спор гибнет при более или менее длительном (даже в условиях, технически легко организуемых—не более рабочего дня) воздействии на них пара при 100°.

Испытание стойкости и действие пара в 100° при обыкновенно-



венном давлении и употребляется для испытания стойкости тест-объектов из спороносных микробов, а иногда для особо стойких неспороносных (*B. tbc.*).

Для более удобных и точных условий опыта предложено много всяких приборов.

В Институте Коха в Берлине применяют прибор Ohlmüller.

Как видно из рис. 22, пары кипящей воды через трубку попадают прямо в коробочку из медной сетки, в которую и помещают испытуемые тест-объекты.

При постановке опыта, не загружая тест-объектов, начинают кипятить воду, ждут минут 10 для того, чтобы дать пару вытеснить весь воздух. После этого кладут несколько тест-объектов на сетку и через определенные, намеченные для опыта промежутки быстро вынимают пробку вместе с сеткой, быстро захватывают стерильным пинцетом очередной тест-объект и немедленно водворяют сетку на прежнее место.

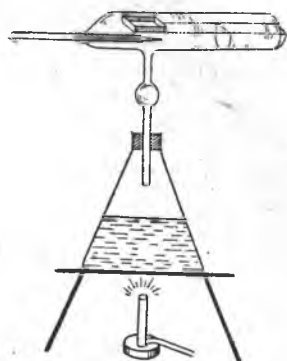


Рис. 22.

Все время опыта термометр должен стоять на  $100^{\circ}$ . Недостаток этого прибора заключается в том, что вынимание из прибора сетки со всеми

тест-объектами ведет к их охлаждению и следовательно не точно сти опыта, к тому же вся манипуляция требует сравнительно много времени, так как сперва надо, придерживая правой рукой прибор, левой вынимать пробку, затем взять пинцет, вынуть тест-объект и, держа его в пинцете (или бросив сразу в бульон), вставить пробку снова в прибор. Для более быстрых манипуляций требуется помощник.

Этот недостаток в значительной мере устранен в приборе Архипьянца, который является одновременно годным в полной мере для испытания стойкости по отношению к парам различных дезинфицирующих растворов (например алкоголя), так как снабжен обратным холодильником (что позволяет поддер-

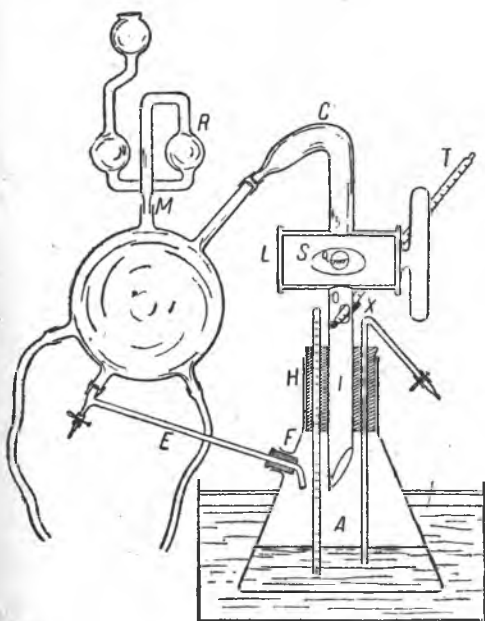


Рис. 23. Прибор Архипьянца.

живать в кипящей жидкости постоянную концентрацию алкоголя).

В приборе Архипьянца и без помощника можно очень быстро вынимать пробы, что делает возможным определение стойкости спор в течение сроков измеряемых секундами.

Охлаждение остающихся тест-объектов при взятии очередного доведено в приборе Архипьянца до минимума.

Прибор Архипьянца (рис. 23—24) состоит из эрленмейеровской колбы *A* и круглого металлического холодильника *B*; пар из кипящей в колбе воды проходит по трубке *C-1* диаметром в 2 см с большим притертым стеклянным краном *L*, вставленным в резиновую пробку колбы.

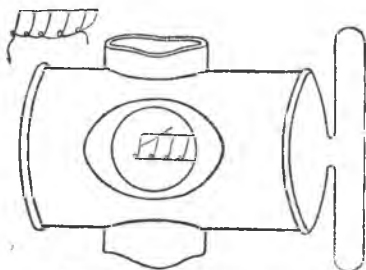


Рис. 24. Деталь рис. 23.

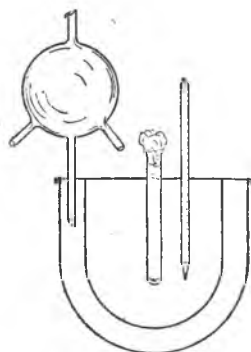


Рис. 25. Прибор Майера (по Архипьянцу).

Конденсировавшийся в холодильнике пар стекает обратно в колбу через тубус.

Между резиновой пробкой и краном в трубке *C-1* имеется тубус *O*, в который вставляется термометр. Стеклянный кран *L* имеет отверстие *Q* с диаметром, как и трубка, в 2 см.

В муфте крана имеется окошечко *S* диаметром в 2 см. При закрывании крана через это окошечко делается возможным доступ в канал крана.

В канал крана вставляется платиновая проволоочная спираль, на которую помещают объекты для испытания.

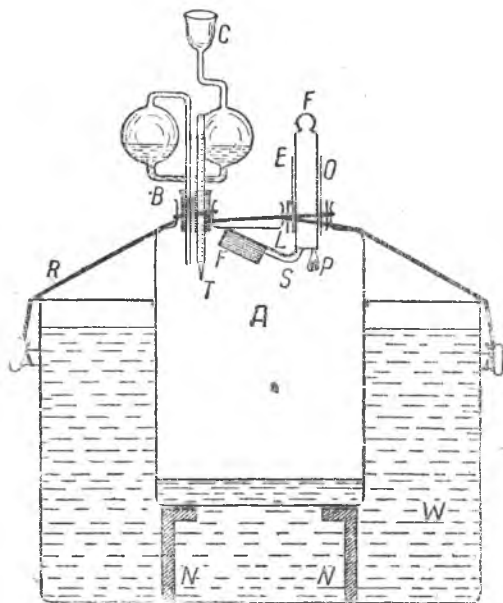


Рис. 26. Прибор Архипьянца для определения стойкости микробов при температурах ниже 100°.

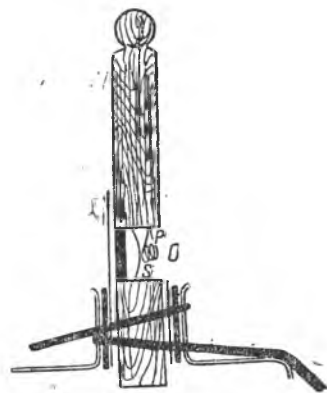


Рис. 27. Деталь рис. 26.

Отводящее колено *C* трубки *C-1* соединяется с холодильником посредством резиновой трубки.

В верхней части холодильника через тубус *M* вставляется воронка *R*, в которую наливают 2—3 см<sup>3</sup> воды. Трубка *X* служит для забора проб для определения

концентрации дезинфицирующих веществ во время опыта. Для простого определения стойкости к температурному воздействию она не нужна.

Главным достоинством прибора является кран, быстро поворачивая который, мы моментально прекращаем действие паров на тест-объекты и легко вынимаем очередной тест-объект.

Жолобок крана должен быть достаточно глубоким, чтобы тест-объекты не выпадали при поворачивании крана на  $90^\circ$ .

При работе с описанными аппаратами рекомендуется при испытании стойкости в течение короткого времени для каждого срока делать специальную зарядку и только в опытах, где время воздействия измеряется многими минутами, можно, положив сразу серию объектов, выбирать их один за одним через положенные промежутки времени.

Для испытания стойкости спор и стойких вегетативных форм при  $80^\circ$  Мауер предложил следующий прибор (рис. 25).

Этот прибор представляет собой водяную баню с двойными стенками. Баня герметически закрывается крышкой, покрытой изнутри асбестом. В промежуток между двойными стенками наливают смесь из 7 частей абсолютного этилового алкоголя и 4 частей пропилового алкоголя, а в середину—дистиллированную воду.

Баню нагревают до момента, когда термометр дойдет до  $80^\circ$  (если температура не доходит до  $80^\circ$ , подливают этилового алкоголя; если поднимается выше  $80^\circ$  — то пропилового). По достижении  $80^\circ$  через отверстие в крышке вставляют пробирку, содержащую взвесь испытуемых микробов.

По прошествии намеченного времени пробирку быстро охлаждают в холодной воде и содержимое ее смешивают с агаром (расплавленным и остуженным до  $42-44^\circ$ ) или засевают в бульон.

Способ этот имеет тот недостаток, что опасен в пожарном отношении, не годится для работы с зараженными объектами и не допускает точной дозировки небольших сроков воздействия.

Для поддержания определенной температуры лучше пользоваться в настоящее время водяными банями с терморегуляторами на разные температуры, позволяющими легко применять для прогревания любую температуру.

Для определения стойкости микробов в тест-объектах при температуре ниже  $100^\circ$  следует помещать их в пробирку вместе с термометром и пробирку опускать в водяную баню, нагреваемую так, чтобы термометр в пробирке с тест-объектами показывал нужную температуру. Удобно для этой цели употреблять предложенный Архипьянцем прибор (рис. 26 и 27).

Прибор состоит из двугорлой склянки Вульфа. В одно отверстие вставлена резиновая пробка *В* с термометром *Т* и воронкой *С*.

В другое отверстие вставлена стеклянная трубка *Е* с отверстием *О* сбоку диаметром в 1 см. На трубку эту, чтобы фиксировать ее в горлышке склянки, надета резиновая трубка.

В стеклянной трубке свободно ходит деревянный стержень *Г*, на который надета резиновая трубка, смазанная глицерином.

Стержень *Г* состоит из двух кусков, соединенных обломком часовой пружины *Д*. В резиновой трубке, одевающей стержень, против пружины сделано отверстие, так что от резиновой трубки остается лишь лента, лежащая параллельно пружине. На верхнем конце стержня против пружины прикрепляется проволочная спираль для помещения тест-объектов.

Для опыта в склянку наливают 20 см<sup>3</sup> воды, в воронку *С* — 2—3 см<sup>3</sup>. Затем склянка помещается в водяную баню и закрепляется так, чтобы видно было приспособление для тест-объектов. При достижении желаемой температуры (ее можно в дальнейшем регулировать специальным терморегулятором) стержень *Р*, который был опущен возможно ниже, выдвигается так, чтобы спираль *Р* видна была в отверстие *О*. Тогда стерильным пинцетом кладут в нее подлежащие исследованию тест-объекты и опускают до максимума вниз. Тест-объекты окажутся внутри прибора открытыми для воздействия соответствующей температуры.

Через выбранный срок стержень выдвигается и через отверстие *О* достают тест-объект и засевают его в питательную среду.

Прибор этот имеет следующие достоинства: при введении и выведении тест-объектов температура внутри прибора не понижается. Откидывающаяся при помощи пружины нижняя часть стержня *Р* делает тест-объект «мгновенно» доступным равномерному воздействию со всех сторон температуры и влажности.

### Испытание стойкости к воздействию паров формалина

Для этой цели мной сконструирован ящик (рис. 28) вместимостью в 10 дм<sup>3</sup>. Ящик в боковых стенках имеет ряд отверстий, закрываемых

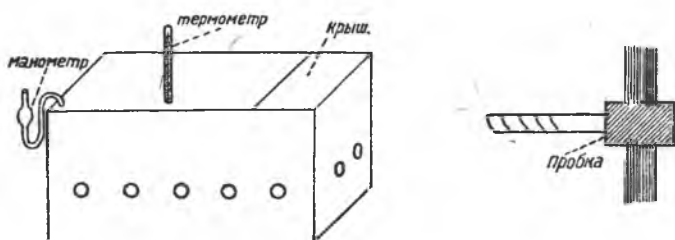


Рис. 28. Ящик для испытания стойкости к воздействию паров формалина.

пробками, в которые вставлены две толстые проволоки, несущие на конце сетчатый желобок. Таких отверстий имеется 9, что позволяет производить опыт с 10 различными средами.

Для производства опыта в желобок кладут подлежащие испытанию тест-объекты; на дно ящика ставят металлическую баночку, в которую насыпают (на 10 дм<sup>3</sup>) 0,2 КМnO<sub>4</sub> и выливают 0,4 см<sup>3</sup> 40% формалина, смешанного с 1,2 см<sup>3</sup> воды, после чего быстро закрывают крышку и заклеивают щели заранее приготовленными полосами бумаги, смазанными клеем.

Пробки должны быть хорошо пригнаны. Обычно через 10 секунд наступает бурное образование паров формальдегида (что может быть проконтролировано при помощи водяного манометра, устроенного сбоку ящика). Через определенные промежутки времени пробки быстро вынимаются и заменяются моментально запасными.

Вынутые тест-объекты либо сразу засеваются, либо подвергаются воздействию паров амиака (положить в чашу Петри вместе с ватой, намоченной амиаком на полминуты; контрольные тест-объекты после такой обработки должны давать рост). Следует отмечать температуру опыта. Способность смеси давать бурное газообразование должна быть предварительно проверена.

## Испытание стойкости к воздействию дезинфицирующих растворов

Принцип метода заключается во внесении в растворы дезинфицирующего агента разной концентрации или на разные сроки (либо влияние концентрации и сроков воздействия учитывается одновременно) микробов, стойкости которых подлежит изучению.

Введение микробов производится или добавлением к раствору взвеси на определенное время с последующим высевом для контроля стерильности или внесением тех или иных тест-объектов, вынимаемых через определенные промежутки времени.

Наиболее важным для получения правильных и точных результатов являются своевременное прекращение действия дезинфицирующего раствора и предупреждение задерживающего действия остатков его, попадающих при посеве в питательную среду.

То и другое достигается н е й т р а л и з а ц и е й.

Для нейтрализации тест-объекты из раствора дезинфицирующего агента переносятся в раствор, нейтрализующий действие последнего.

Для нейтрализации солей тяжелых металлов употребляют сернистый амоний, для галоидов—серноватистокислый натрий, для кислот—щелочи, для щелочей—кислоты, для фенола, крезола и их производных—щелочи, для формальдегида—амиаки и т. д.

Во избежание вредного воздействия на микробов нейтрализующих веществ берут слабые растворы последних. Шепиловский рекомендует например 3% амиаки с последующим промыванием в воде. Schneider и Seligmann—2% едкий натр и т. д.

После нейтрализации тест-объекты промываются в стерильной воде и переносятся в питательную среду.

В Институте Коха применяется метод Коха, который не нейтрализовал, а лишь промывал тест-объекты перед посевом в стерильной воде.

При промывке и нейтрализации следует ставить контрольные опыты с тест-объектами, продержанными вместо дезинфицирующего средства в стерильной водопроводной воде и подвергнутыми действию нейтрализующего раствора. Эти контроли помогут исключить ошибки из-за бактерицидного эффекта веществ, употребляемых для нейтрализации.

Prossauer считает, что нейтрализация должна производиться при соблюдении следующих условий: нейтрализующее вещество должно 1) вводиться в избытке, 2) не давать задержки роста само по себе, 3) получаемые при нейтрализации соединения должны быть прочны и не должны обладать бактерицидными свойствами.

Следует оговориться, что требование отсутствия задержки роста от действия нейтрализующего вещества и продукта его соединения с дезинфицирующим веществом может иметь место лишь для концентраций, употребляемых обычно при опыте. Задержка роста более сильными концентрациями естественно не является противопоказанием к употреблению данного вещества в качестве нейтрализатора.

Для примера опишу методику производства опыта в Институте Коха в Берлине.

П р и м е р. Определение стойкости *B. typhi* к 5, 4, 3, 2 и 1% карболовой кислоте в течение 5 минут, 30 минут, 1 часа и 2 часов производится следующим порядком.

На столе ставятся в ряд 5 колб, содержащих карболовую кислоту в разных концентрациях (5, 4, 3, 2 и 1%). Следующий ряд: высокие баночки с крышками, содержащие тест-объекты из батиста, зараженные культурой; далее идут 4 ряда (соответственно 4 выбранным срокам времени) таких же высоких баночек с крышками (типа чашек Коха, малых диаметром, но до 4—5 см высоты), наполненных стерильной водопроводной водой.

В определенное время быстро обливают кулочки батиста растворами из колб и через 5 минут (1-й срок воздействия) быстро стерильным пинцетом переносят тест-объект из раствора в баночки с водой 1-го ряда в такой же последовательности, в какой производилось обливание дезинфицирующим раствором.

Через 30 минут стерильным пинцетом переносят тест-объект в баночки 2-го ряда и т. д.

В свободные промежутки времени тест-объекты из воды переносят стерильным пинцетом в питательные среды.

При применении нейтрализации вводят еще два набора баночек (каждые 4 ряда по 5) для нейтрализующего вещества и воды для промывания.

Такую аранжировку можно применить и для определения бактерицидности неизвестного вещества по отношению к ряду микробов. Для этого вместо фенола берут различные разведения испытуемого вещества и ставят ряд опытов с различными культурами описанного типа.

Большое значение для результатов опыта имеет температура среды. Златогоров наблюдал более резкое действие лизоформа при 37 и при 22°.

Если параллельно определять бактерицидную силу по отношению к нескольким заранее выбранным микробам карболовой кислоты и неизвестного дезинфицирующего вещества, то можно определить карболовый коэффициент последнего, но лучше пользоваться для этого методикой Rideal-Walker.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРБОЛОВОГО КОЭФИЦИЕНТА ПО RIDEAL-WALKER

Описанные способы определения стойкости микробов к различным дезинфекционным растворам годятся лишь для определения неизвестной стойкости данного штамма или тест-объекта.

По нам в практике приходится определять не только стойкость микроба, но и пригодность того или иного дезинфекционного средства, или иными словами его с т а н д а р т и з и р о в а т ь.

Получение сравнимых результатов при этом возможно лишь при применении специальной методики определения карболового и прочих коэффициентов.

Дело в том, что если бы мы стали проверять действительность данного дезинфекционного средства при помощи даже предварительно изученной культуры, то все же стойкость и свойства ее в момент испытания и в условиях опыта для нас остались бы неизвестными. Поэтому мы должны сравнивать действие изучаемого вещества на данного микроба параллельно с действием уже хорошо изученного вещества. При прочих равных условиях и по получаемой разнице можно судить о действительности и относительной ценности данного препарата.

Одного общего метода, который позволил бы сравнивать ценность любых дезинфицирующих веществ, нет, так как последние чрезвычайно разнообразны по своей химической структуре и условиям

применения. Для дезинфицирующих веществ, примыкающих к фенолу, способ Rideal-Walker является очень хорошим объективным методом, особенно если надо сравнить действие дезинфицирующего вещества на микробов, могущих быть убитыми в условиях этого способа.

### Методика опыта

**П р и н ц и п м е т о д а.** Берут ряд последовательных разведений исследуемого вещества и для сравнения ряд разведений карболовой кислоты. Вносят в них определенное количество культуры, например *V. typhi* или какой-либо другой, и через определенные промежутки времени от момента заражения (5, 7,5 10, 12,5 и 15 минут) делают отсевы в бульон. Ставят их в термостат и через 48 часов по отсутствию роста в посевах из тех или иных разведений судят об убивающей бактерий концентрации. Сравнивая таковую у карболовой кислоты и исследуемого вещества, определяют так называемый карболовый коэффициент.

Преимущества этого метода заключаются в том, что при нем исключается ошибка, происходящая при других способах от колебаний в стойкости различных культур, задерживающего действия остатков дезинфицирующего агента в посевах, от влияния температуры и других условий опыта, ибо бактериеубивающие силы исследуемого вещества сравниваются в совершенно одинаковых условиях с таковой у хорошо изученного дезинфицирующего вещества карболовой кислоты.

**К у л ь т у р а д л я и с ы т а н и я.** Культура *V. typhi* сохраняется на агаре уколом и ежемесячно перевивается.

За 5 дней до опыта культура пересевается ежедневно и последовательно в пробирки с бульоном и выращивается при 37°.

Посевы производятся при помощи стандартной петли.

Для опыта последняя 24-часовая бульонная культура *V. typhi* фильтруется через стерильный бумажный фильтр.

**С т а н д а р т н а я к а р б о л о в а я к и с л о т а.** Употребляется совершенно чистый препарат с точкой плавления не ниже 40°, хранящийся в темноте в склянке с хорошо притертой пробкой.

Для опыта должен употребляться всегда свежий, приготовленный в тот же день 5% раствор. Он готовится растворением 1 весовой части расплавленного подогреванием фенола в 19 частях дистиллированной воды.

Измерительные цилиндры, пипетки и пр. для опыта должны быть совершенно чистыми, сухими и точно градуированными.

Платиновая петля свивается на конце в виде спирали, имеющей 4 полных оборота, для того чтобы за один раз набрать больше посевного материала.

Желательно иметь водяную баню для температуры в 20°, при которой рекомендуется держать пробирки во время опыта.

**П р и г о т о в л е н и е р а з в е д е н и й к а р б о л о в о й к и с л о т ы и и с с л е д у е м о г о в е щ е с т в а** производится обязательно в день опыта.

Сперва готовятся 5% разведения, для чего к 95 см<sup>3</sup> стерильной дистиллированной воды добавляют 5 см<sup>3</sup> исследуемого вещества

и втягиванием и выдуванием пипетки промывают последнюю, после чего содержимое цилиндра хорошо встряхивается.

Из 5% растворов карболовой кислоты и исследуемого вещества готовят основные разведения 1 : 50.

Если исследуемое вещество неспособно растворяться в количестве 5%, то готовят вместо 5 1% раствор.

Из основных растворов готовят ряд последовательно возрастающих разведений по 5 см<sup>3</sup> каждого.

Последовательные разведения лучше всего строить в виде правильных геометрических рядов, причем разведения карболовой кислоты следует готовить в интервале 1 : 50—1 : 200, а исследуемого вещества в таком интервале, разведения которого могли бы покрыть предполагаемую зону его действия.

Приготавливать разведения можно по следующей схеме:

№ про- бирки	Дистил. вода в см <sup>3</sup>	Дезинфицирующее вещество	Разведение
1	—	5 см <sup>3</sup> основн. разв. 1 : 50 . . . . .	1 : 50
2	5	30 см <sup>3</sup> основн. разв. 1 : 50 смешать и пере- лить в проб. № 3—30 см <sup>3</sup> смеси . . .	1 : 58
3	5	30 см <sup>3</sup> из проб. № 2 смешать и перелить в проб. № 4—30 см <sup>3</sup> смеси . . . . .	1 : 68
4	5	30 см <sup>3</sup> из проб. № 3 смешать и перелить в проб. № 5—30 см <sup>3</sup> и т. д. . . . .	1 : 78
5	5	. . . . .	1 : 91
6	5	. . . . .	1 : 106
7	5	. . . . .	1 : 125
8	5	. . . . .	1 : 147
9	5	. . . . .	1 : 172
10	5	. . . . .	1 : 200
11	5	. . . . .	1 : 233
12	5	. . . . .	1 : 270
13	5	. . . . .	1 : 314
14	5	. . . . .	1 : 365
15	5	. . . . .	1 : 424
16	5	. . . . .	1 : 494

Каждое последующее разведение этой схемы в 0,86 раз меньше предыдущего. Такую правильную геометрическую схему можно построить в любом интервале с любым количеством членов ряда для любого количества, пользуясь для этого формулами схем для биологических титрований, приведенных в моей статье в «Микробиологическом журнале» за 1929 г.

Заранее дать схемы, годные для любых дезинфицирующих веществ и микробов, нельзя; к каждому опыту должен быть индивидуальный подход.

Для того чтобы не делать лишних разведений, если испытуемое вещество имеет ограниченную зону предполагаемого действия, можно поступить следующим образом.

Если например предполагается, что исследуемое вещество будет действовать в интервал 1 : 300, 1 : 500, то приготавливают наибольшее разведение схемы, меньше 1 : 300, и, начиная с него, приготавливают разведения по методу этой схемы, а именно берут разведение 1 : 270, а следующее 1 : 314 готовится добавлением к 30 см<sup>3</sup> разведения 1 : 270 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и т. д.

В США принято делать разведение следующим образом:



Разведение				Разница раз- ведений
1 : 5	1 : 10	1 : 15	и т. д. до 1 :	70 5
1 : 70	1 : 80	1 : 90	» »	1 : 160 10
1 : 160	1 : 180	1 : 200	» »	1 : 200 20
1 : 200	1 : 225	1 : 250	» »	1 : 400 25
1 : 400	1 : 450	1 : 500	» «	1 : 900 50
1 : 900	1 : 1 000	1 : 1 100	» »	1 : 1 800 100
1 : 1 800	1 : 2 000	1 : 2 200	» »	1 : 3 200 200
и т. д.				

Из этих разведений выбирают для карболовой кислоты разведения 1 : 80—1 : 130 (зона, в пределах которой карболовая кислота оказывает бактерицидное действие), для исследуемого вещества—разведения, покрывающие предполагаемую зону его действия.

При приготовлении разведений дезинфицирующих веществ некоторые исходят из их эквимолекулярных растворов, что до известной степени представляется более правильным.

По приготовлении разведений приступают к о п ы т у.

Разведения исследуемого вещества и карболовой кислоты должны содержаться в пробирках по 5 см<sup>3</sup> каждого. Для простоты опыта лучше не брать более 10 разведений каждого вещества, иначе опыт придется ставить в два приема.

В каждую из пробирок, содержащих разведения исследуемого вещества, вносят по 0,1 см<sup>3</sup> 24-часовой бульонной культуры *V. typhi* при помощи пипетки, градуированной на 0,01.

Прибавление культуры следует производить прикосновением конца пипетки к стеклу сейчас же под жидкостью и после прибавления следует тщательно встряхивать.

На внесение культуры в одну пробирку должно идти не более 15 секунд; при более быстрой работе не вносить культуру в следующую пробирку до истечения 15 секунд после внесения в предыдущую. Такая расстановка манипуляций позволит точно через определенный промежуток времени делать высевы из каждой пробирки. Ровно через 5 минут после прибавления культуры к первой пробирке из нее переносят по петле в три пробирки бульона (можно ограничиваться в крайнем случае двумя и даже одной пробиркой). Совершенно точно через 15 секунд производят посев из второй, еще через 15 секунд—из третьей. Таким образом время действия каждого разведения дезинфицирующего вещества на микробов будет равно точно 5 минутам.

Все пересевы займут 2½ минуты. По окончании этой серии посевов, после 5-минутного воздействия, приступают тотчас к посевам после 7,5-минутного воздействия.

Как раз в момент окончания посева из последней пробирки культура в первой пробирке и будет находиться под воздействием дезинфицирующего агента 7,5 минуты.

Посевы делают опять с 15-секундными интервалами. Таким же порядком производят посевы после 10, 12,5 и 15-минутного воздействия.

Из описания видно, что в течение 10 минут от лаборанта требуется очень напряженная работа: каждые 15 секунд он должен сделать посев.

Во избежание задержки работы для охлаждения петли работают с двумя совершенно одинаковыми петлями. После прокалывания

петли ставится в какую-либо подставку для охлаждения, пока работают с другой пеглей.

При посеве сразу в три пробирки бульона петлю можно непрокалывать перед заражением каждой из этих пробирок.

Посев в три пробирки производится для исключения всяких случайностей при работе.

На первых порах не следует делать посев в три пробирки бульона, а лишь приступать к такому посеву по приобретении навыков.

По окончании производства опыта с исследуемым дезинфекционным веществом производят такой же опыт с карболовой кислотой.

Все засеянные пробирки ставят в термостат при 37° на 48 часов; по истечении этого срока определяют наличие или отсутствие роста в тех или иных пробирках (+ рост, — стерильно).

Пример вычисления:

Получены следующие результаты

	Разведение	Время действия в минутах				
		5	7,5	10	12,5	15
Исследуемое дезинфицирующее вещество	1 : 125 . . . . .	—	—	—	—	—
	1 : 147 . . . . .	—	—	—	—	—
	1 : 172 . . . . .	—	—	—	—	—
	1 : 200 . . . . .	+	+	—	—	—
	1 : 233 . . . . .	+	+	+	—	—
	1 : 270 . . . . .	+	+	+	+	—
	1 : 314 . . . . .	+	+	+	+	+
	1 : 365 . . . . .	+	+	+	+	+
	1 : 424 . . . . .	+	+	+	+	+
	1 : 494 . . . . .	+	+	+	+	+
Карболовая кислота	1 : 50 . . . . .	—	—	—	—	—
	1 : 58 . . . . .	—	—	—	—	—
	1 : 68 . . . . .	—	—	—	—	—
	1 : 78 . . . . .	—	—	—	—	—
	1 : 91 . . . . .	+	—	—	—	—
	1 : 106 . . . . .	+	+	—	—	—
	1 : 125 . . . . .	+	+	+	+	+
	1 : 147 . . . . .	+	+	+	+	+
	1 : 172 . . . . .	+	+	+	+	+
	1 : 200 . . . . .	+	+	+	+	+

$$\text{Коэффициент} = \left( \frac{172}{78} + \frac{200}{91} + \frac{270}{106} \right) : 3 = (2,2 + 2,2 + 2,5) : 3 = (6,9) : 3 = 2,3.$$

Определение карболового коэффициента производится нахождением среднего арифметического трех отношений высшего разведения исследуемого вещества, убившего данную культуру, к таковому карболовой кислоты, взятых при разных сроках воздействия.

Таким же образом можно определить феноловый коэффициент и при употреблении других культур, например *staphylococcus*, *B. anthracis* и т. д.

Если исследуемое вещество принадлежит к солям тяжелых металлов, то для сравнения можно взять хорошо изученную сулему; если это есть производное формальдегида, то для сравнения берут его чистый раствор и т. д.

Описанный метод является наиболее точным из существующих, но и он имеет свои недостатки, вытекающие из невозможности и при нем учесть все условия, при которых проявляется действие дезинфицирующего агента.

Выше было указано, что различные вещества обладают специфически сильным бактерицидным эффектом по отношению к разным видам бактерий. Для исправления возможной ошибки, происходящей от этого явления, необходимо определять карболовый коэффициент, употребляя не одну, а целый ряд разнообразных культур.

При испытании какого-либо дезинфицирующего агента рекомендуется как правило определять карболовый коэффициент для трех культур: *V. coli*, *staphylococcus* и *V. anthracoides*.

Во всех нужных случаях применять индивидуальный подход к плану опыта.

Если в один и тот же день ставят опыт сразу с тремя культурами, то разведения готовят каждое в количестве 15 см<sup>3</sup> и потом разливают по 5 см<sup>3</sup>.

Недостаток метода заключается в том, что он сравнивает действие исследуемого и стандартного вещества в чистых растворах, а, как выше было указано, действие дезинфицирующих веществ в разных средах может быть резко различным.

Для исправления этого недостатка Anderson и Mc Clintic предложили смешивать 1 часть культуры с 10 частями стерильного раствора следующего состава:

Дистиллированной воды . . . . .	100,0
Пептона . . . . .	10,0
Желатины . . . . .	5,0

и прибавлять к каждому разведению вместо 0,1 чистой культуры 1,1 смеси.

Разведения при этом способе разливаются по 4 см<sup>3</sup> и готовятся так, что по прибавлении 1 см<sup>3</sup> органического раствора получаются нужные по схеме разведения.

При необходимости изучить действие данного агента в специальных условиях может быть употреблено в виде раствора любое органическое вещество, и вообще опыт может быть обставлен так, чтобы условия его производства как можно точнее соответствовали условиям действия данного агента при его практическом применении.

Таким образом при некотором усложнении опыта приведенные недостатки способа можно до известной степени устранить.

Конечно условия действия дезинфицирующих агентов настолько сложны, что говорить об абсолютной точности не приходится, но из существующих методов метод Rideal-Walker является наиболее обоснованным и точным.

Для устранения влияния на точность опыта задерживающего влияния остатков дезинфицирующего агента, попадающих в посев, Chick рекомендует засеянные пробирки взбалтывать и тотчас переносить

свить 1 петлю в дополнительную пробирку бульона; при этом дезинфицирующее вещество так сильно разводится, что практически о его действии говорить не приходится.

Но этот способ имеет тот недостаток, что благодаря сильному разведению культуры в окончательный посев могут не попасть те единичные экземпляры микроба, которые отличаются максимальной стойкостью.

Как выше было указано, определение карболового или иного коэффициента можно производить по методу Института Коха с кусочками батиста, но предпочтительнее пользоваться оригинальным методом Rideal-Walker, который является узаконенным в США и широко распространен в Англии.

Только пользование каким-либо одним стандартным методом позволяет получать сравнительную оценку и определять действительную ценность различных препаратов дезинфекционных средств.

К сожалению в СССР до сих пор не имеется еще закона о правилах производства стандартизации дезинфекционных средств, что часто ведет к весьма неопределенной оценке того или иного препарата.

## ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ ДЛЯ КАМЕРНОЙ И ЖИЛИЩНОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

При дезинфекции вещей в паровых и пароформалиновых камерах, если имеется в виду уничтожение неспорозоносных микробов, следует употреблять тест-объекты со спорами *B. anthracoides*, выдерживающими действие пара при 100° не менее 5 минут.

Для усиления стойкости рекомендуется выращивать культуры при комнатной температуре.

При контроле дезинфекции сибиреязвенного материала следует употреблять споры большей стойкости (минимум 10 минут при 100°) и взвесь готовить с добавлением сыворотки.

В качестве добавочных тест-объектов можно употреблять споры *B. subtilis* и палочки дифтерии.

При контроле работы камеры выбранные тест-объекты размещаются при всевозможных условиях: свободно лежащими, слегка прикрытыми, в глубине вещей (последнее особенно важно, если камера сильно загружена), вблизи от впуска пара или формалина, вдали и т. д.

После окончания дезинфекции тест-объекты вынимаются и вместе с контрольными, т. е. хранившимися в таких же условиях, но не бывшими в камере, отсылаются по возможности без задержки в лабораторию в сопровождении регистрационного бланка дезинфекции.

Тест-объекты для жилищной дезинфекции и их применение.

Формалиновая дезинфекция жилищ наряду с камерной дезинфекцией является главным объектом для бактериологического контроля.

При формалиновой дезинфекции применение тест-объектов со спорами бесполезно, так как они не будут убиты.

Хорошим набором для контроля такой дезинфекции являются тест-объекты с *B. dysenteriae*, *staphylococcus* и *B. coli* или *B. dysenteriae* (см. ниже). Микробы в этих тест-объектах должны выдерживать до

5 часов воздействия формалина концентрации, обычно применяемой на практике. При дезинфекции по поводу туберкулеза обязателен контроль с туберкулезной мокротой. Тест-объекты при контроле должны раскладываться опять-таки в разных местах: вблизи, вдаль от аппарата, на полу, на столе, на постели, в карманах одежды.

По окончании дезинфекции тест-объекты отсылаются в лабораторию тем же порядком, что и тест-объекты для камерной дезинфекции.

Следует указать, что при учете результатов и при предъявлении требований к формалиновой дезинфекции следует считаться с ее поверхностным действием.

Для контроля жилищной дезинфекции можно рекомендовать пользоваться тест-объектами из *B. ruosuaueus*, приготовляемыми и употребляемыми по способу, проверенному в лаборатории Department of Health в Нью-Йорке и давшему хорошие результаты при нашей проверке.

Методика этого способа следующая. Бумажные нитки длиной в 2—3 см обливаются в чашках Петри 48-часовой бульонной культурой *B. ruosuaueus* (*B. coli*, *staphylococcus* и др.). Через 2—3 минуты нити для обсушивания переносятся на листы заранее приготовленной стерильной фильтровальной бумаги. Последняя заготавливается следующим образом: берут три слоя фильтровальной бумаги размером примерно 20×30 см, складывают их пополам, заворачивают в бумагу и в таком виде стерилизуют; перед употреблением раскрывают ее, держа лишь за концы листов, и в стерильную середину вкладывают подлежащие обсушиванию тест-объекты; обсушивают поглаживанием ладонью по бумаге.

Дальнейшая сушка тест-объекта производится в термостате или эксикаторе.

Я бы рекомендовал сушку в термостате в широких банках, заткнутых рыхлой ватной пробкой, в течение 24 часов и с последующим досушиванием 1—2 дня при комнатной температуре в темноте.

Готовые тест-объекты переносятся в бумажные стерильные конверты, на которых помечаются дата и все необходимые данные изготовления их.

В таком виде тест-объекты закладываются в разных местах дезинфицируемой комнаты и по окончании дезинфекции укладываются еще в один конверт вместе с регистрационной карточкой данной дезинфекции и отсылаются в лабораторию.

В лаборатории отмечается дата поступления, нити вынимаются и помещаются в специальную среду Аугер.

Среда готовится по следующему рецепту:

Asparagini . . . . .	4,0
Natrii phosphor. neut. . . . .	2,0
Natrii lactici . . . . .	6,0
Natrii chlorati . . . . .	5,0
Aq. destill. . . . .	1000,0

Среда подщелачивается едким натром до щелочной реакции по лакмусу.

В такой среде культура *B. ruosuaueus* дает через 24—48 часов хорошую зеленую окраску, позволяющую сразу отличить рост *B. ruosuaueus* от роста случайных загрязнений.

Посевы выдерживаются в термостате 48 часов, после чего отмечаются результаты.

## ИСПЫТАНИЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ АГЕНТОВ

Для суждения о результатах опытов и проводимых дезинфекций мы должны определить жизнеспособность микроорганизмов в тест-объектах, подвергающихся воздействию того или иного дезинфицирующего агента.

Способность к прорастанию определяется посевом. Кроме того для некоторых микробов мы употребляем еще опыт на животных. Последний употребляется для того, чтобы убедиться в жизнеспособности микроорганизмов, с трудом культивируемых (*B. tuberculosis*), или для определения сохранения или утери патогенных свойств микробами, подвергнутыми вредным воздействиям.

Аналогичным образом испытывается и жизнеспособность микробов при методе взвесей.

**И с с л е д о в а н и е   п о с е в о м.** Тест-объекты или 0,1—1 см<sup>3</sup> взвеси засеваются в питательную среду. Питательная среда должна быть наиболее благоприятной для развития данного микроба. Лучше всего употреблять жидкие среды (Gruber и Schüller) с добавлением сыворотки или углевода.

В тех случаях, когда хотят учесть хотя бы процент гибели микробов (что возможно лишь при методе взвесей), делают посев в расплавленный и охлажденный до 42—44° агар, причем параллельно засевают равное количество взвеси, не подвергнутой воздействию агента для контроля, и, сравнивая полученный результат, судят об успешности действия и вычисляют последнюю в процентах. Посевы ввиду возможной задержки роста (особенно частой у спороносных микробов) после вредных воздействий рекомендуется выращивать не менее 3 дней, лучше до одной недели. Более долгие сроки, до 1—2 месяцев, не рекомендуются, так как дают «нечистые результаты от всевозможных случайных загрязнений» и кроме того на практике применение таких сроков крайне затруднительно.

Над посевами устанавливается ежедневное наблюдение.

Во Франции в лаборатории Conseil Supérieur d'Hygiène Publique в Париже результаты отмечаются через следующие сроки: 12, 24, 36, 48 часов и 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30 дней.

Температура для выращивания должна быть оптимальной для данного микроба.

В некоторых случаях, когда рост на простом или сахарном бульоне нехарактерен, можно употреблять демонстративные среды. Например при испытании тест-объектов с *B. coli* можно засеивать в среду с маннитом и с бродильной трубкой (разведенная среда Bulir без нейтральрота) и учитывать как проросшие лишь посевы, давшие брожение.

Во всех случаях прорастания, если только нет бесспорного признака наличия роста культуры именно из тест-объекта (например рост *B. ruosaupeus* с образованием характерного пигмента), необходимо из проросших посевов делать мазки и убедиться, что они содержат ми-

кробов, морфологически и по Граму идентичных с микробами из тест-объекта; в противном случае посев считается стерильным, так как прорастание в таком случае есть результат случайного загрязнения.

При исследовании мазков из посевов тест-объектов с *V. diptheriae* хорошо окрашивать мазки кроме способа Грама еще и по способу Neisser.

При некоторых специальных заданиях следует проверять вирулентность выросшей культуры.

Опыт на животном делается следующим образом: тест-объекты размачиваются в пробирке в небольшом количестве физиологического раствора, затем все содержимое пробирки инъцируется морской свинке. Следует вводить хотя бы в кожный кармашек кусочки бумаги или ткани от тест-объекта.

При заражении тест-объектом с туберкулезной мокротой ждут заболевания свинки 2—3 месяца (подробности см. в главе «Молоко»).

## ГЛАВА ДВЕНАДЦАТАЯ

### БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ДЕРАТИЗАЦИИ СУЩНОСТЬ, СТЕПЕНЬ УСПЕШНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ МЕТОДА

Крысы являются зачастую передатчиками заразных болезней; уже по одному этому борьба с ними представляется важной задачей санитарного характера. Но помимо этого крысы и мыши ежегодно наносят сельскому хозяйству, промышленности и торговле убытки на много миллионов рублей. Помимо газового и химического методов истребления этих грызунов мы обладаем еще бактериологическим методом.

Для истребления крыс этим методом употребляют заражение их *V. Danysz*, относящегося к группе *V. enteritidis* Gärtner. Крысоистребление производится путем скрамливания крысам шариков теста, зараженного культурами *V. Danysz*. Крысы, поевшие зараженного теста, в большинстве случаев погибают. При этом некоторыми предполагается еще возможность заражения здоровых, не евших шариков крыс от заболевших, главным образом путем пожирания трупов погибших крыс. Таким образом получается хотя бы некоторое подобие эпизоотии среди крыс. Правильно или неправильно последнее предположение, сказать пока еще трудно, но факт исчезновения грызунов после бактериологической дератизации установлен точно.

При применении этого метода надо иметь в виду, что только вполне точное выполнение всех правил приготовления и применения культур дает нам возможность проводить дератизацию успешно и безопасно для людей.

Дело в том, что—особенно в Германии—часто наблюдаются случаи заражения людей при производстве бактериологической дератизации. Это дает повод некоторым выступать с протестами против применения для крысоистребления культур крысиного тифа и заявлять о его санитарной опасности.

Но постановка дела приготовления культур для крысоистребления в Германии и других местах бывала иногда настолько неудоб-

влетворительной, что могла повлечь за собой применение *B. enteritidis* Gärtner вместо *B. Danysz*, так как способы дифференцировки их еще недостаточно разработаны, чтобы быть применяемыми на практике. Это тем более возможно, когда усиление и поддержание вирулентности производится путем пассажей через крыс. У крыс иногда встречается в кишечнике *B. Gärtner*, и это может повести к замене при пассаже культуры *Danysz* культурой *Gärtner*. Случаи заболеваний человека при дератизации бактериологическим методом всего проще объяснить именно этой путаницей микробов. При применении вполне определенной культуры *Danysz* (лучше всего выписывать из вполне авторитетных и заслуживающих доверия в смысле добросовестности лабораторий, занимающихся этим делом специально, например из лаборатории по бактериологическим методам борьбы с грызунами Сельскохозяйственной академии в Ленинграде), патогенной лишь для крыс, и при правильном хранении ее (пересевы на среде Мережковского) дератизация может считаться безопасной для человека. Такое положение может быть подтверждено целым рядом наблюдений русских работников в этой области, никогда не наблюдавших несмотря на широкий масштаб работы случаев заражения человека (Мережковский, Успенский, Мысловская-Немилова).

Возможность заболевания человека вообще не исключена. Но видимо заболевание может возникать лишь при массивном заражении. Поэтому не рекомендуется делать затравки в местах хранения пищевых припасов и при проведении бактериологической борьбы соблюдать все предосторожности против случайного поедания людьми приманки.

При соблюдении надлежащих предосторожностей мы можем считать метод практически безопасным.

Что же касается его у с п е ш н о с т и, то опять-таки мнения расходятся; тот же германский опыт указывает на сравнительно малую ценность метода. Так, при испытании трех видов отравлений—морского лука, фосфора и культуры крысиного тифа—в Гамбурге оказалось, что бактериологический метод стоял на последнем месте по действию (всего 20—30% гибели крыс). Но опять-таки это еще не решает вопроса, так как культура, при этом применявшаяся, стоит под сомнением.

Но, с другой стороны, ряд авторов (Мережковский, Xylander, Исаченко, Kolle и др.) установил процент смертности в 60—98. Последнее обстоятельство говорит, что при правильной организации и технике применения мы можем рассчитывать получить хороший эффект, и на самом деле при соблюдении этих условий у нас в СССР удавалось неоднократно получать его. В этом отношении заслуживает особого внимания трехлетний опыт, проведенный здравотделом Октябрьской ж. д.

Для приготовления культур и их раскладки был организован специальный дератизационный отряд. Особое внимание было обращено на приглашение опытного инструктора по раскладке шариков. Приготовление культур и раскладка шариков производились при соблюдении всех требуемых условий. Результат этого опыта можно наглядно представить в виде таблицы количества попорченного крысами груза (это является достаточно хорошим показателем количества крыс в железнодорожных помещениях).



Месяцы	1923	1924	1925	1926
Январь . . . . .	—	27 840	0	0
Февраль . . . . .	—	6 032	12	0
Март . . . . .	—	35 312	64	0
Апрель . . . . .	33 472	224	0	0
Май . . . . .	3 404	1 200	0	0
Июнь . . . . .	256	3 568	0	0
Июль . . . . .	32 176	3 136	0	—
Август . . . . .	30 480	1792 начало дератиз.	0	—
Сентябрь . . . . .	17 488	832	0	—
Октябрь . . . . .	8 352	880	176	—
Ноябрь . . . . .	83 648	0	0	—
Декабрь . . . . .	26 416	0	0	—

О целом ряде случаев вполне успешного применения сообщает также Успенский. Но видимо отрицательную сторону метода представляет то обстоятельство, что через 2—3 года после начала дератизации результаты получаются хуже. Это можно себе предположительно объяснить постепенным появлением среди крысиного населения затравляемых районов иммунитета. Но точно вопрос о появлении иммунитета еще не выяснен. Теоретически же это является вполне вероятным.

В таких случаях можно рекомендовать полный или частичный переход на химический метод.

Последний хуже бактериологического тем, что крысы очень неохотно берут затравленные приманки и часто подымают под полом. Отсюда следует, что бактериологический способ дератизации следует рекомендовать особенно при первичной обработке местности.

Вопрос о появлении иммунитета должен подвергнуться специальному изучению.

Следует указать, что для успешности метода необходимо производить затраву сразу больших районов и помнить, что однократная дератизация не дает длительного эффекта. Для поддержания количества крыс на постоянно низком уровне необходима повторная, 1—2 раза в год, бактериологическая дератизация с комбинированием ее в подходящих случаях с химическими отравками (фосфор, морской лук).

## МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ДЕРАТИЗАЦИИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

### Хранение и сохранение вирулентности культур Danysz

Полученная из специальной лаборатории культура для сохранения ее вирулентности должна сохраняться засеянной в среду Мережковского (10 частей круто сваренного яичного белка нарезаются на мелкие кусочки, прибавляются к 100 см<sup>3</sup> воды и автоклавизируются, после чего фильтруются, разливаются и стерилизуются). Антоновский рекомендует не автоклавировать, а после варки при 100° стерилизовать фильтрованием через фильтры Seitz или Berkefeld.

Пересевы делаются еженедельно. Пассажи через крыс для усиления вирулентности не допускаются из-за опасности перепутать штамм с палочками группы Gärtner, часто встречаемыми в организме крыс. Для употребления культуры с белковой среды пересеваются сперва в бульон и через 24 часа—на свежую порцию бульона в необходимом количестве.

Во время работ по дератизации культура по возможности чаще испытывается на вирулентность (еженедельно). Для испытания 5 крыс заражаются скормливанием им 10 см<sup>3</sup> 24-часовой бульонной культуры.

При удовлетворительной вирулентности крысы на 5-й день заболевают и погибают на 7—9-й день. В крайнем случае можно пускать в работу культуры, дающие гибель крыс позже (15-й день). Погибшие крысы подвергаются секции и бактериологическому обследованию.

Для этих контрольных опытов следует брать обязательно серых крыс из районов, не подвергавшихся бактериологической дератизации (чтобы избежать ошибок из-за иммунности). Крысы по доставке в лабораторию выдерживаются в карантине не менее месяца. В помещении для опытных животных должны соблюдаться строжайшая чистота и изоляция зараженных крыс от здоровых.

### Приготовление культур

Для приготовления культуры для затравки В. Danysz с белковой среды пересевается в колбу с бульоном (1 см<sup>3</sup> белковой культуры на 100 см<sup>3</sup> бульона) емкостью в зависимости от количества требуемой для затравки культуры. В общем каждый литр бульона заражается 5—10 см<sup>3</sup> 24-часовой бульонной культуры.

Следовательно для заражения 10 л пойдет 50—100 см<sup>3</sup> бульонной культуры.

Бульон для затравки, если он требуется в большом количестве, можно готовить в бидоне из белой жести и лучше из оцинкованного железа, снабженном по возможности герметической крышкой.

Готовый бульон разливается по бидонам емкостью в 10—15 л каждый, закрывается ватными пробками и стерилизуется.

Посев производится в чистой комнате и при отсутствии движения воздуха. Моровской пипеткой вливают в 10-литровый бидон 50—100 см<sup>3</sup> культуры.

Лучше заражать бульон еще теплым после стерилизации (30—35°). После этого бидоны ставят в термостат при 37° и через 24 часа выросшие культуры проверяются на чистоту и густоту роста и пускаются в дело.

Для далекой транспортировки ватные пробки в бидонах заменяются стерильными металлическими крышками.

В случае пересылки в зимнее время следует избегать чрезмерного охлаждения, так как вирулентность при этом страдает.

### Приготовление шариков для затравки

Культура для затравки замешивается с мукой (можно также с кукурузной «деркой» или зародышами-щитками или с давленным

овсом после отвеса—Антоновский) в тесто, скатывается в шарики, которые и раскладываются по дератизируемому помещению.

Приготовление шариков по указаниям Мережковского производится следующим образом.

На чистый стол с плотной крышкой (без щелей) насыпают муку в виде холмика с углублением в середине; в это углубление наливают бульонную культуру из расчета 1 л на 2 кг ржаной муки (пшеничная не годится). Предварительно культура сильно взбалтывается. Затем замешивают тесто (руки месильщиков должны быть чистыми и без всяких запахов).

Тесто раскатывается в колбаски, разрезается и скатывается в шарики в грецкий орех величины. Из 1 л культуры обычно получается 100—120 шариков.

После приготовления шариков остаток культуры уничтожается и стол тщательно обмывается кипятком. Руки месильщиков должны быть после работы обмыты сулемой и щеткой с мылом.

### Раскладка шариков

Готовые шарики складываются в корзины не более 1 000 в каждой. Ряды шариков пересыпаются мукой во избежание слипания. При раскладке следует придерживаться следующих правил.

Разбить все помещения по степени их зараженности грызунами на три разряда: сильно, средне и слабо зараженные помещения.

Определение зараженности помещений требует большого навыка и умения ориентироваться во всяких мелких признаках присутствия грызунов (количество дыр, помета, порченных продуктов и т. д.). Но не всегда эти данные соответствуют количеству грызунов.

Точный учет—дело опыта. Расчет количества шариков таков: на каждую крысу должно приходиться 10 см<sup>3</sup> культуры.

В общем можно руководствоваться следующими нормами: на 4 м<sup>2</sup> сильно зараженной площади кладут 4 шарика, средне зараженной—2 шарика и слабо зараженной—1 шарик. Расчет ведется, принимая во внимание дворы и прочие открытые помещения. Так как на последних раскладывают по 1 шарiku на 8—16 м<sup>2</sup>, то на сильно зараженные места фактически приходится на 4 м<sup>2</sup> до 10 шариков.

При раскладке наибольшее количество шариков кладут у нор, помойных ям, складов ветоши и т. п. Раскладку лучше производить к вечеру. В зимнее время не следует дератизировать неотапливаемые помещения. При заражении мест, загрязненных мочой и навозом, не класть шариков в последние, так как вирулентность может резко уменьшиться.

Обычно шарики поедаются в тот же день.

Поедаемость при удачной работе — 80—100%. Эффект затравки скажется через 2—4 недели.

В случае неудачной дератизации через 3—4 недели производится повторное заражение.

К условиям успешности затравки относится необходимость затравки больших обособленных районов (в крайнем случае кварталов) одновременно, так как в противном случае на дератизированный участок скоро набегает крысы из соседних районов, и гнездовая дератизация обычно цели не достигает.

## Приготовление бульона для развонок В. Dapysz

Для приготовления бульона необходимо пользоваться обычным мясопептонным бульоном, приготовленным на хорошем пептоне.

В случае отсутствия последнего можно готовить среду из свиных желудков, приготовляемую по следующему рецепту:

1. Разрезать на мелкие части свиные желудки (обратить внимание на целостность слизистой).
2. Взять: дистиллированной воды 1000,0  
          соляной кислоты 10,0  
          желудков 200,0
3. Поставить при 50° на 10—24 часа.
4. Нагреть до 100°.
5. Фильтровать через вату.
6. Подщелочить 10% едким натром до слабощелочной реакции.
7. Для употребления при полном переваривании разводить мясной водой до 4 л.
8. Хранить раствор можно в кислом виде или, подщелочив, простерилизовать в автоклаве.

**Д р о ж ж е в а я с р е д а** (рецепт лаборатории по бактериологическому истреблению грызунов Всесоюзной сельскохозяйственной академии).

Троекратно отмытые прессованные отработанные пивные дрожжи низового брожения кладутся в эмалированный бак до  $\frac{3}{4}$  его объема и помещаются при 50° для автолиза. Полученную жидкость разводят в 10 раз горячей водой и кипятят полчаса. Оставляют при комнатной температуре на 24 часа. Отстоявшуюся жидкость осторожно сливают сифоном, нейтрализуют раствором едкого натра до pH равной 7,4 и стерилизуют 30 минут при 120°. Таким образом получается концентрированный раствор; культуры на нем разводят в 10—20 раз и употребляют в полевых опытах.

Для засева культур для жилищной и амбарной работы концентрированную среду до засева разводят в 4 раза и употребляют культуру без разведения.

Эту среду можно особенно рекомендовать ввиду ее дешевизны.

При составлении сметы на дератизационные работы следует иметь в виду, что в среднем стоимость затравки 4 м<sup>2</sup> обходится в 0,5 коп., считая персонал, оборудование и пр.

Для истребления мышей употребляют В. typhimurium Мережковского.

Опыты по истреблению сусликов при помощи В. Dapysz дали за последнее время отрицательный результат (Ступницкий).

Видимо в этом отношении следует предпринять поиски подходящих возбудителей спонтанных эпизоотий среди сусликов и других грызунов, подлежащих истреблению, или получить таковые путем селекции.

Работники Азово-черноморского краевого научно-исследовательского института микробиологии и эпидемиологии (Миллер, Покровская, Квашнина, Гржебина, Швец, Бунатян и др.) выделили во время спонтанной эпизоотии среди мышей стрептококка. Применение его культуры для истребления мышей в опытных условиях во время «мышинной напасти» дало увеличение смертности по сравнению с контрольной группой в 4—5 раз.

Заражение удается и путем раскладывания приманок и путем выпуска зараженных грызунов в амбары с большим количеством мышей.

## ГЛАВА ТРИНАДЦАТАЯ

# КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ ОБ ИССЛЕДОВАНИИ НА БАЦИЛОНОШЕНИЕ<sup>1</sup>

## ВВЕДЕНИЕ

Очень часто клиническое выздоровление больного не означает еще освобождения организма выздоравливающего от патогенных микробов.

Последние могут длительно оставаться в организме и, выделяясь наружу, подвергать опасности заражения окружающих.

Наряду с такими бацилоносителями среди окружающих больного могут иметься вполне здоровые и не болевшие данной инфекцией лица, также являющиеся бацилоносителями (в немецкой литературе различают бациловыделителей, т. е. выздоравливающих, выделяющих патогенных микробов, и бацилоносителей—здоровых). Третьей группой лиц, выделяющих патогенных микробов, являются лица, перенесшие слабое abortивное заболевание, прошедшее незаметным.

Такие бацилоносители пожалуй наиболее опасны, так как выделяют иногда длительно большое количество патогенных микробов. Friedberger обращает при разработке эпидемиологических вопросов на таких лиц самое серьезное внимание, но по его мнению в начале каждой эпидемии, пока еще недостаточно усилился вирус, такие невыраженные заболевания встречаются с преимущественной частотой. Особая опасность таких лиц заключается в том, что они в противоположность больным тяжелыми формами не изолируются, не остаются дома, а работают, ходят и разносят таким образом заразу.

Вместе с отрицательной стороной в бацилоношении есть и положительная. В большинстве случаев количество и сила вируса, передаваемого носителями, недостаточны, чтобы при обычных условиях вызвать заболевания, но достаточны, чтобы при повторных поступлениях в организм постепенно создать относительный иммунитет (естественная иммунизация). Процесс этот видимо особенно часто имеет место при дифтерии и скарлатине.

Бацилоносители среди лиц неболевших не имеют такого значения, так как ношение у них по преимуществу не имеет длительного характера, а является временным (Гартох).

Различают (Götschlich) хронических бацилоносителей (ношение свыше года) и острых (до года).

Бацилоношение имеет большое эпидемиологическое значение и встречается при следующих главнейших инфекциях: брюшной тиф, паратифы, дизентерия, холера, дифтерия, цереброспинальный менингит, чума, инфлюэнца, гонорея, туберкулез.

<sup>1</sup> В этой главе не приводятся детали лабораторного обследования, поскольку они имеются в общих руководствах по бактериологии, а приводятся лишь особенности обследования на бацилоношение по сравнению с обычными.

Из них мы остановимся на бацилоношении при желудочно-кишечных инфекциях, дифтерии, цереброспинальном менингите как вопросах, наиболее разработанных и имеющих актуальное значение в повседневной санитарно-эпидемиологической работе.

Длительность ношения различных патогенных микробов может меняться в зависимости от многих условий. Наиболее часто встречается носительство среди женщин.

Для кишечных инфекций особое значение для сохранения патогенных бактерий имеет желчный пузырь. Выделение брюшнотифозных палочек из желчного пузыря наблюдается годами и даже десятками лет (по Gregg—52 года), холерный вибрион по Кулеша выделялся из желчного пузыря в течение года. Микробы могут жить при этом не в самой желчи, а в стенках пузыря, периодически поступая в желчь. Этим обстоятельством и объясняется толчкообразное выделение микробов, наблюдаемое у некоторых бацилоносителей. О количестве носителей среди окружающих больного дают представление следующие данные. На 100 здоровых, находившихся в соприкосновении с холерными больными во время эпидемии 1908/09 г. в Ленинграде, Кулеша находил 6 носителей *V. cholerae asiaticae*.

По Lingsheim на каждого больного цереброспинальным менингитом приходится 2—4 здоровых носителя.

При брюшном тифе количество носителей может даже в некоторых случаях превысить число больных (Златогоров, Friedberger).

По данным Двужильного среди окружающих тифозных больных во время эпидемии 1927/28 г. в Ленинграде обнаружено 6% бацилоносителей.

Такое широкое распространение бацилоносителей придает вопросу об их обнаружении и борьбе с ними большое эпидемиологическое значение.

К сожалению производство систематических массовых обследований с целью обнаружения носителей при настоящей степени развития в СССР лабораторной сети и слабой мощности отдельных лабораторий является чрезвычайно затруднительным. Приходится в случаях необходимости ограничиваться обследованием наиболее подозрительных или опасных в эпидемиологическом отношении групп населения.

Наиболее часто применяется обследование на носительство возбудителей кишечных инфекций (холера, брюшной тиф и паратиф).

При всех исследованиях на носительство следует напомнить, что однократный результат исследования мало доказателен; для придания большей достоверности следует исследование повторить несколько раз. Конечно такое повторение исследования применимо на практике только среди небольших групп обследуемых, а не при массовых обследованиях, когда обычно ограничиваются одним исследованием.

В конце этой главы описываются исследования рук пищевиков на присутствие *V. coli* как показателя их загрязнения.

Такое исследование дает возможность косвенным образом судить о степени опасности заражения в случае появления среди данной группы пищевиков бацилоносителей.

## ОБСЛЕДОВАНИЕ НА НОСИТЕЛЬСТВО ПРИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

При обследовании на носительство возбудителей кишечной инфекции обращают главное внимание на работников пищевой промышленности и торговли. Очень важно обследование персонала молочных ферм, молочных лавок, водопроводов, служащих столовых и т. п. Обследование предпочтительнее делать в эпидемическое время.

Далее исследуются лица, приходящие в тесное соприкосновение с больными: персонал больниц, родственники и живущие по соседству с заболевшими.

При появлении заболеваний среди лиц, приходящих в соприкосновение с выписавшимся больным, следует самым тщательным образом обследовать последнего на носительство.

В первую очередь следует исследовать лиц, болевших в течение последних пяти лет. Среди этой группы носительство наблюдается значительно чаще, чем у остальных. Выделительство происходит систематически и массивными дозами. Поэтому эта группа наиболее опасна в эпидемиологическом отношении. Кроме того обследованию в первую очередь подлежит население квартир, домов, кварталов, являющихся очагами интенсивных заболеваний и т. п. (обследование по эпидемическим показателям).

### Исследование faeces

Так как микробы этой группы инфекций выделяются главным образом с faeces, то для обнаружения носительства производится исследование этих выделений. Перед взятием пробы необходимо для успешности исследования вызвать послабление, так как в твердых, оформленных faeces, скапливающихся в нижнем отделе толстых кишок, часто вовсе не удастся найти патогенных микробов. В то же время в верхних отделах кишечника они находятся в довольно большом количестве.

Для послабления рекомендуется дать карлсбадскую соль (1 чайную ложку на взрослого человека). Употребление карлсбадской соли имеет то преимущество, что одновременно с послаблением она вызывает усиленное желчеотделение. Последнее способствует усиленному поступлению микробов из желчного пузыря, в котором они наиболее длительно сохраняются, в кишечник. Исследованию подвергаются лишь свежие экскременты. При невозможности в течение короткого времени после взятия материала приступить к посевам рекомендуется консервировать его. Для этого брюшнотифозные faeces смешиваются с равным объемом 30% раствора глицерина на физиологическом растворе; дизентерийные — смешиваются с равным объемом 0,1% раствора едкого натра.

При массовом обследовании можно производить забор материала при помощи стеклянной трубки толстого стекла с хорошо оплавленными концами (20—25 см длиной). Трубка вводится в прямую кишку сантиметров на 10.

Трубки с набранными faeces кладут затем в стерильные толстостенные пробирки и отсылают в лабораторию. Можно также, в особенности при обследовании военных частей, сезонных рабочих и прочих

обособленных и хорошо организованных групп населения, рекомендовать организацию обследования, проведенную в лагере для военнопленных в Гаммерштейне в Германии (1915—1918 гг.).

По описанию Штуцера обследование производилось следующим образом.

Для взятия проб был организован отряд из 3 человек, из которых один являлся ответственным лицом (Stuhlabnehmer).

Подлежащая обследованию группа выводилась на свободное место около отхожих мест и под наблюдением отряда производила акт дефекации в специально раздаваемые картонные тарелки. Сбоку тарелки надписывались фамилии и номера обследуемых.

Отряд при этом следил, чтобы не было дежекки faeces, и отмечал тех, кто не мог дать экскрементов. Затем из каждой тарелки забирались пробы в приборы для пересылки faeces, после чего тарелки выбрасывались в отхожее место. Приборы поступали в лабораторию для исследования. Проводимое таким образом обследование дало хорошие результаты на огромном материале.

Описываемый лагерь пропустил через санобработку не менее 450 000 человек. Цифра эта, а также то, что работа производилась под руководством видных германских гигиенистов (Kulscher, Baerthlein, Dietrich, Scheller), заставляют нас особенно внимательно отнестись к такому массовому опыту. Чрезвычайно важным условием точности работы является строгий контроль за получением материала. Способ, когда обследуемой группе раздаются приборы для взятия материала, сбор которого поручается самым обследуемым, является мало пригодным. Мне на моей практике приходилось иногда узнавать после законченной работы по исследованию такие подробности о взятии материала, которые сводили в значительной степени к нулю проделанную работу.

При ограниченных возможностях лаборатории по производству исследований в большом масштабе можно прибегать к следующему приему: обследуемая группа делится на партии в 5—10 человек. Партии нумеруются, и полученные от каждого обследуемого faeces смешиваются все вместе и в одной посуде отправляются в лабораторию.

Естественно, что смешивание надо производить возможно тщательнее, причем весь смешанный кал, даже если faeces жидкие, разводится физиологическим раствором и засеивается обычным способом.

После исследования партии, смесь faeces которых дала отрицательный результат, считаются свободными от носителей. Партии с положительным результатом исследования смеси faeces обследуются вторично уже при помощи тщательных индивидуальных обследований (каждого). Следует отметить, что к такому способу обследования можно прибегать лишь в крайнем случае, когда индивидуальное обследование всех невозможно, так как при таком обследовании получаются менее надежные результаты.

Но при массовых эпидемиологических обследованиях мы должны помнить, что очень часто нам выгодно обследовать хотя бы менее точно большее число лиц, чем обследовать *lege artis* небольшую группу населения.

Первое даст скорее и более точное представление об источниках и способе распространения инфекции, чем второе.



Приведенная мысль подтверждается еще тем, что даже *lege artis* проведенные исследования в случае отрицательных ответов не гарантируют от ошибок.

Далее конечно важным пунктом для проведения кампании обнаружения носителей и вообще всей организации борьбы с инфекционными болезнями должна считаться широкая санитарно-просветительная работа. Проведение обследования после санпросветительной обработки должно упрочить в глазах обследуемых полученные знания и заставить сознательно относиться к возможности заражения окружающих носителями.

Итак, для обследования носителей дают слабительное, производят выемку проб под строгим контролем ответственных лиц и как можно скорее транспортируют в лабораторию.

Пересылка материала может производиться в специальных приборах, состоящих из широкой и низкой стеклянной пробирочки с корковой пробкой со вставленной в последнюю жестяной ложечкой. Пробирка эта помещается в металлический патрон, в свою очередь помещаемый в деревянный футляр. В таком виде материал доставляется в лабораторию.

В случае, если материал доставляется в лабораторию специально инструкторованными и могущими нести ответственность лицами, можно просто пробирки с вышеописанными приборами или пробирками с ложечками складывать в плотный ящик с опилками. Горлышки пробирок при этом обвязываются пергаментной бумагой. Если вышеописанных приборов для пересылки не имеется, лучше брать материал трубками. Можно также употреблять для пересылки материала толстостенные банки, в которые материал собирается при помощи стеклянных палочек.

Какого бы рода посуда ни употреблялась, она должна быть стерильной [трубки для массового взятия стерилизуются завернутыми пачками (5—10 штук) в бумагу].

В крайнем случае употребляют посуду, кипяченую 20—30 минут в 1% растворе соды; точно так же должны быть простерилизованы и пробки.

Ни в коем случае не допускается употребление для стерилизации посуды химических дезинфекционных средств.

При всех описанных манипуляциях следует принимать все меры личной и общественной профилактики и в частности не допускать мух садиться на объекты.

Каждый посылаемый объект снабжается этикеткой с указанием названия группы, имени, фамилии, номера обследуемых и времени взятия пробы.

Исследование объектов в лаборатории. Доставленные в лабораторию *faeces* исследуются по возможности немедленно.

План обследования в общем не отличается от такового при исследовании выделений от больных. Следует лишь широко применять методы посева в накопительной среде (желчь, среда Müller—среды с бриллиант-грюн). Но параллельно следует обязательно делать высев непосредственно на чашки с твердой питательной средой. При исследовании на холеру рекомендуется употреблять Pilon-agar (см.

список рецептов сред), детали исследования на тиф и паратифы см. выше.

Количество faeces, засеваемое в жидкие накопительные среды, должно быть возможно большим (до 10 г); при этом соответственно увеличиваются объемы питательных сред (200 см<sup>3</sup>).

Как уже было указано, с целью расширить круг обследуемых можно, хотя бы в ущерб точности, упрощать исследование.

Kutscher по свидетельству Штутцера с успехом применял в упомянутом лагере Гаммерштейна следующий план обследования, позволявший доводить количество исследований на врача (при 2 лаборантах и 3 служителях) до 150 в день, а при исследовании на холеру даже до 250.

Подозрительные колонии, выросшие на чашках, засеянных непосредственно исследуемыми faeces (а в случае исследования на холеру еще и из накопительной культуры в пептонной воде), подвергались исследованию при помощи ориентирующей пробы агглютинации. Род примененной сыворотки зависит от цели исследования, т. е. от наличия той или иной эпидемии.

Этой пробой и заканчивается исследование, и только в сомнительных случаях применяется дальнейшее исследование с классической реакцией агглютинации и испытанием биохимических свойств.

Конечно такой упрощенный способ может повести к ряду ошибок, но количество искажало качество. Все же упрощенным исследованием злоупотреблять не следует и, если есть возможность, следует вести исследование по полной схеме.

### Другие способы нахождения носителей

При подозрении на тифозное носительство можно сделать у всех обследуемых реакцию Видаля.

У носителей почти всегда реакция бывает положительной. Поэтому отрицательный результат реакции с довольно большой степенью вероятности говорит против носительства.

Положительная реакция не является еще доказательством носительства (так как она может зависеть от бывшей профилактической прививки, от перенесенного заболевания без последующего носительства).

Но лиц с положительной реакцией следует тщательно обследовать в индивидуальном порядке на носительство.

При обследовании лиц, особо подозрительных в эпидемиологическом отношении, и при отрицательных данных исследования faeces можно исследовать содержимое двенадцатиперстной кишки, добываемое посредством дуоденального зонда, и мочу; хотя в последней у носителей тифозные палочки встречаются редко, но выделение патогенных микробов этим путем более опасно для окружающих.

Само собой разумеется, что оба последних способа могут употребляться лишь для индивидуального обследования отдельных лиц или очень небольших групп в случаях большой важности точно решить вопрос о наличии носительства.

## Атипичные штаммы

При исследовании на бациллоносительство надо быть особенно готовым к нахождению атипичных штаммов. У носителей согласно последним исследованиям микробы особенно часто находятся в виде R-типов Arkwright (стр. 207).

Поэтому тщательное выполнение исследования требует обязательного выделения чистых культур всех подозрительных колоний и их полного биохимического исследования. Отсутствие способности аглютинироваться еще не исключает принадлежности микроба к данному виду.

При нескольких пересевах такие микробы приобретают способность аглютинироваться.

При брюшном тифе, наоборот, могут наблюдаться штаммы, аглютинирующиеся (а иногда и неаглютинирующиеся), но отличные по биохимической характеристике. Розен во время московской эпидемии 1926/27 г. находил атипичные палочки брюшного тифа, образующие индол или несбраживающие маннита. При последующих пересевах атипичные штаммы приобретали типичные для *B. typhi* свойства.

Все это заставляет нас с особым вниманием отнестись ко всем подозрительным культурам.

Для восстановления типичных свойств рекомендуется проведение выделенных микроорганизмов через желчь (несколько пересевов).

При исследовании на бациллоносительство обязательно следует учитывать биохимические и серологические особенности штаммов данной эпидемии.

## ОБСЛЕДОВАНИЕ НА НОСИТЕЛЬСТВО ПАЛОЧЕК ДИФТЕРИИ

Ввиду преимущественной заболеваемости дифтерией детей обследование на дифтерийное носительство производится главным образом в школах, кроме того эти исследования проводятся среди живущих в одной квартире с заболевшими, среди персонала дифтерийных отделений и в больницах среди детей, находящихся в больнице по поводу других заболеваний (выяснение степени возможности больничной инфекции).

Производящееся после выздоровления от дифтерии трехкратное исследование на носительство не относится к разбираемому вопросу, так как примыкает к обследованию больных. Но в случае появления заболеваний среди окружающих недавно выздоровевшего ребенка следует произвести самое тщательное обследование последнего на носительство дифтерийных палочек.

Взятие материала и производство исследования. Для исследования собирается слюнь из зева и носа при помощи простерилизованного сухим жаром тампона.

Тампон должен быть прочно накручен на проволоку и помещаться в стерильной пробирке так, чтобы конец проволоочки проходил через пробку пробирки и выдавался наружу.

При взятии слизи надо стараться брать материал главным образом из крипт миндалин.

Зараженные тампоны вкладываются обратно в пробирку и в таком виде немедленно отсылаются в лабораторию.

В случае невозможности отослать немедленно или невозможности сразу произвести посев рекомендуется во избежание высыхания материала налить на дно пробирки небольшое количество стерильного физиологического раствора. Зараженный тампон не должен при этом доходить до жидкости. Такие пробирки пересылаются в лабораторию в вертикальном положении. При массовом взятии материала с помощью шпателя его конечно после каждого обследуемого подвергают стерилизации (все время несколько шпателей кипятится и несколько стынет).

Удобнее пользоваться индивидуальными деревянными шпателями, сжигаемыми после употребления. Пробирки со взятым материалом снабжаются наклеенной этикеткой с указанием группы, имени, фамилии, номера обследуемого и времени взятия пробы.

В последнее время вместо взятия материала тампонами предложен метод кашлевых пластинок, дающий по данным Башенина больший процент положительных находок, чем обычный.

Метод заключается в том, что исследуемый кашляет, держа перед ртом чашку со средой, которая далее выращивается и исследуется обычным способом.

И с с л е д о в а н и е   м а т е р и а л а   в   л а б о р а т о р и и .  
Доставленный материал в лаборатории сееется на чашки или пробирки с сывороткой Löffler, кровяной агар или среду Левинталя.

При посеве на чашках гораздо легче ориентироваться в наличии подозрительных колоний; площадь посева, а следовательно и возможности выделения значительно большие, чем на пробирке. Желательно даже употреблять не одну, а две чашки.

Посев производят так: сперва тампоном намазывают площадку (4—6 см<sup>2</sup>) на одной чашке, при этом тампон поворачивают всеми его сторонами и особенно концом, а затем при помощи шпателя или петли производят посев сперва по всей поверхности первой чашки и затем последовательно по второй.

Чашки с сывороткой неудобно готовить впрок, так как они быстро подсыхают и прорастают.

Для избежания этого я поступаю так: в лаборатории постоянно имеется заранее приготовленная в пробирках по 10—15 см<sup>3</sup> стерильная смесь одной части 1% глюкозного бульона с тремя частями бычьей сыворотки (стерилизация производится после смешивания стерильного бульона с сывороткой, взятой по возможности в стерильных условиях, прогреванием при 56° в течение 7 дней подряд по 1 часу).

Перед посевом сыворотку Löffler разливают по чашкам и свертывают в свертывателе Коха с горизонтальным дном или в сушильном шкафу при медленном повышении температуры до 70—80°. Образующаяся при этом в избытки конденсационная вода сливается, и чашки употребляются для посева.

Посевы ставятся до следующего утра при 37° и затем исследуются на присутствие подозрительных колоний. Таковые проверяются мазками, окрашенными по Neisser, по Граму на наличие типичных по форме и расположению грамположительных палочек.

Из колоний, содержащих палочки, морфологически сходные с дифтерийной, делается высев чистых культур.

В случае отсутствия колоний, содержащих подозрительные палочки, делают мазки *en masse* с мест наиболее густого роста и, если в них обнаруживают палочки, морфологически сходные с *B. diphtheriae*, «разбрасывают» вновь на чашки для получения изолированных колоний.

Полученные чистые культуры обязательно проверяются на вирулентность внутрикожной пробой на свинке.

Испытание на сбраживание углеводов может дать ответ лишь на вопрос, является ли выделенная палочка дифтерийной или нет.

Наличие среди дифтерийных палочек неvirulentных штаммов, значительно менее важных в эпидемиологическом отношении, делает последний метод мало пригодным для исследования бациллоносителей. Идеальным является исследование по крайней мере всех сомнительных случаев по тому и другому способу; это дает возможность подойти к вопросу о частоте наличия носителей неvirulentных, но в остальном типичных дифтерийных палочек. Последнее представляется важным для накопления материала по выяснению деталей вопроса о носительстве при дифтерии.

Само собой разумеется, что отрицательные результаты имеют лишь относительное значение.

При затруднениях в проведении посевов на чашках можно допустить посевы на пробирки со скошенной средой Löffler. После стояния 12—18 часов при 32° посевы проверяются мазками (*en masse* со всей поверхности) на присутствие подозрительных по дифтерии палочек, и в случае их нахождения делается внутрикожная проба на вирулентность по Pawens и Powell. Для этого из смешанной культуры первичного посева на среде Löffler готовится взвесь густотой в 200 млн. бактерий в 1 см<sup>3</sup> по кишечному стандарту. Взвесь инъцируется в кожу в количестве 0,1 см<sup>3</sup>. Двум свинкам (одна из них контрольная) за сутки вводят интраперитонеально 250 АЕ дифтерийного антитоксина.

В случае положительного результата на месте инъекции наблюдается инфильтрат и гиперемия, обязательно заканчивающиеся некрозом. Наблюдение ведут до 3 суток. При известном навыке на двух свинках—опытной и контрольной—удается испытать до 15—20 культур.

Следует указать, что обычно применяемый при клиническом исследовании на дифтерию диагноз *B. diphtheriae* только на основании морфологических признаков при исследовании на носительство не имеет почти никакой ценности при эпидемиологическом исследовании на носительство. Поэтому обследование таким способом в значительной мере бесполезно.

При исследовании на присутствие *B. diphtheriae* следует помнить о чрезвычайной изменчивости последней в особенности в отношении морфологии.

Микроорганизм, имеющий вид палочек, обычно описываемых как псевдодифтерийные при пересеве, может сразу дать колбообразные формы, типичное расположение и пр., приписываемые в современных руководствах типичной *B. diphtheriae*. Поэтому главное внимание следует уделять исследованию на вирулентность и биохимических свойств.

В последнее время Гартохом было обращено внимание на сравнительно редкое нахождение у носителей большого количества палочек дифтерии, а так как видимо лишь такие носители имеют эпидемиологическое значение, то Гартох предлагает применять количественный учет наличия дифтерийных палочек путем посевов различных разведений физиологического раствора, зараженного материалом с тампона. Наибольшую опасность представляют случаи, где палочки дифтерии обнаруживаются при посеве разведений 1:50 и более раз (см. «Микробиологический журнал», 1931 г., XI, вып. 2—3).

## ОБСЛЕДОВАНИЕ НА НОСИТЕЛЬСТВО ПРИ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОМ МЕНИНГИТЕ

Обследование на носительство при цереброспинальном менингите применяется главным образом среди лиц, окружающих больных и выздоровевших, от соприкосновения с которыми появляются новые заболевания.

В качестве материала для исследования служила слизь из носоглотки в области хоан.

Для получения материала стерильный тампон на мягком зонде, согнутом на конце под прямым углом, вводят за мягкое небо и obtирают слизистую в области хоан.

Язык при этом отдавливается вниз.

При взятии материала стараются не задеть языка, миндалин и дужек. Взятый материал немедленно подвергается посеву на чашки с асцитическим агаром (по крайней мере две). Техника посева такая же, как и при исследовании на дифтерийное носительство. В случае невозможности немедленно приступить к посеву тампон надо предохранить от засыхания, вставив в стерильную пробирку с небольшим количеством стерильного физиологического раствора.

Чем больше прошло времени с момента взятия материала до посева, тем меньше шансов обнаружить менингококк.

Выросшие на чашках подозрительные колонии исследуются мазками, и в случае наличия подозрительных грамтрицательных диплококков выделяется чистая культура на косом асцит-агаре или в асцит-бульоне с одновременным контрольным посевом на пробирку обыкновенного агара.

Выделенная культура обязательно испытывается на отношение к углеводам, и желательно еще и испытание агглютинирующими сыворотками 4 типов (А, В, С, D).

В средней полосе СССР можно в крайнем случае ограничиться сыворотками типов А и В, так как эти типы являются здесь наиболее распространенными (Розен).

Обычно применяемый в клинической практике морфологический диагноз менингококка не должен применяться. В слизи носоглотки много микробов, морфологически вовсе не отличимых от менингококка, поэтому такой способ диагностирования поведет к очень частым ошибкам, совершенно обесценивающим проведенное обследование.

Krumwiede предложил применять при исследовании на носительство менингококков следующую упрощенную методику (ср. методику при кишечных инфекциях).

Выросшие на чашках при посеве слизи носителя подозрительные колонии испытываются при помощи ориентирующей пробы агглютинации.

При производстве этой пробы в данном случае Krumwiede предлагает применять в качестве агглютинирующей сыворотки лечебную противоменингококковую сыворотку (поливалентную, приготовленную при помощи иммунизации штаммами всех типов, встречающихся в данной местности).

Предварительно определяется разведение сыворотки, дающее в условиях этой пробы вполне отчетливую реакцию с целым рядом менингококковых культур. Наибольшее разведение, дающее такую реакцию, употребляется для работы (сыворотка Krumwiede агглютинировала в разведении 1:10—1:25). В качестве контрольной капли вместо физиологического раствора берется капля нормальной сыворотки того вида животного, от которого взята иммунная сыворотка (обычно лошади). Пробные капли затем подсушиваются, фиксируются, окрашиваются по Граму. В случае наличия соответствующей морфологической картины и положительной реакции считается, что данный материал содержит агглютинирующихся менингококков.

Этот метод имеет те же достоинства и недостатки, как и метод Kutscher. При массовых обследованиях он может оказаться очень полезным.

Отрицательный результат исследования и по упрощенной и по полной схеме не дает еще гарантий на отсутствие носительства. Повторный отрицательный результат уже более доказателен.

## ОБСЛЕДОВАНИЕ НА НОСИТЕЛЬСТВО ПРИ СКАРЛАТИНЕ

Хотя возбудитель скарлатины до сих пор еще не выяснен, некоторые полагают, что наличие скарлатинозного гемолитического стрептококка, считаемого или за возбудителя скарлатины или за постоянного спутника скарлатины, в зеве окружающих больного лиц свидетельствует о носительстве таких лиц возбудителя скарлатины.

Для обнаружения носителей гемолитического стрептококка сеют слизь из зева обследуемых на чашки с 10% кровавым агаром.

В случае наличия гемолитического стрептококка через 24 часа при 37° вырастают характерные колонии с поясом резкого гемолиза.

Метод этот не может считаться окончательно доказанным и нуждается в дальнейшей проработке и подтверждений. Дело в том, что даже у здоровых лиц, а тем более у лиц, больных обычной ангиной, очень часто находят в зеве гемолитического стрептококка, морфологически не отличимого от вышеупомянутого скарлатинозного. Поэтому такое исследование имеет малую ценность.

Испытание стрептококков на способность их вырабатывать специфический скарлатинозный токсин очень сложно и делает метод этот неприменимым на практике. Да и специфичность токсина еще не всеми признается.

Таким образом вопрос о выработке методики исследования на носительство скарлатинозного вируса пока еще следует считать делом будущего.

Для предупреждения возможности распространения заразы от бактерионошения недостаточно произвести обследование на носительство, ибо, во-первых, отрицательные результаты обследования не всегда достоверны, и среди лиц, давших отрицательные результаты (и следовательно против которых не принималось никаких мер), могут оказаться носители (ср. толчкообразное выделение микробов носителями).

Во-вторых, ввиду невозможности своевременного обследования всех опасных в эпидемиологическом отношении групп населения таковое предпринимается обычно тогда, когда уже появились первые заболевания от заражения носителями. Поэтому для предупреждения таких заболеваний необходимо применять метод, позволяющий заранее учесть величину опасности заражения в случае появления носителей среди данной группы населения. Такой учет особенно важен среди групп лиц, работающих по пищевой промышленности и торговле, а также в разного рода столовых.

Степень опасности передачи заразы от носителей находится в прямой зависимости от чистоты рук, а следовательно от санитарной культуры данной группы лиц.

Если человек, даже являющийся носителем, после каждого посещения уборной хорошо вымывает руки, то опасность передачи им заразы сравнительно мала, если он этого не соблюдает,—велика. Немецкие гигиенисты в упомянутом выше лагере Гаммерштейн придавали этому обстоятельству большое значение. У отхожих мест лагеря постоянно находился таз с дезинфицирующим раствором и стоял вооруженный часовой, наблюдавший за неукоснительным выполнением требования гигиенистов лагеря—обмывать руки каждый раз после пользования уборной.

Степень чистоты рук и наличие фекального загрязнения можно (в порядке опыта) проконтролировать при помощи испытания рук на наличие *V. coli commune*, т. е. применить метод, аналогичный определению *coli*-титра питьевой воды.

В данном случае, как и при исследовании воды, нахождение патогенных микробов затруднительно и отрицательные результаты ненадежны, и кроме того мы не должны дожидаться появления носителей, для того чтобы применять те или иные меры.

Истинным профилактиком будет тот, кто добьется полной чистоты, при которой даже наличие носителей не повлечет за собой распространения заразы.

Поэтому мы прибегаем к методу определения фекального загрязнения рук.

Такое обследование покажет степень санитарной культуры обследуемой группы, а при соответствующей санитарно-просветительной обработке (следует производить ее после проделанного обследования, иначе может наблюдаться кратковременное усиленное мытье рук, и результаты обследования не будут соответствовать обычной действительности) поднимет санитарную сознательность в этом отношении. На несознательные элементы действует самый факт контроля за чистотой их рук. Повторное обследование после введе-



ния обязательного мытья рук покажет степень успеха проведенной кампании.

Тут следует сказать, что *V. coli* на руках иногда может и не происходить непосредственно из faeces данного лица, но во всяком случае нахождение его свидетельствует о плохой очистке рук.

Результаты обследования рук пищевиков на Октябрьской ж. д. на присутствие микробов группы *V. coli*

Должность	Всего проб	% проб брожения бульона с лактозой	% обнаружения микробов группы фекального происхождения <sup>1</sup>
Повара . . . . .	29	65	28
Кух. рабочие . . . . .	16	62	42
Официанты . . . . .	39	54	13
Продавцы кооперативов . . . . .	43	83	35
Заведующие, кассиры, буфетчики и пр. . . . .	23	39	9
Судомойки . . . . .	24	63	12,5
Торговцы ларьков . . . . .	3	33	33
Всего . . . . .	183	60,6	22,4
Контроль: персонал Центр. лаборат. Окт. ж. д. . . . .	26	23	4

Результаты обследования рук лабораторных работников, имевших дело постоянно с faeces, мочой и т. д., дали значительно меньший процент находок *V. coli*, чем руки пищевиков. Причина—хорошая очистка рук у первых и плохая—у вторых.

Методика самого обследования следующая.

Заготавливаются широкогорлые банки с бродильными трубками с бульоном, а также неразведенная среда Bulir без нейтрализатора или 1% бульон с лактозой в широкогорлых банках по 200 см<sup>3</sup> емкости с бродильными трубками по 50 см<sup>3</sup> среды в каждой. Кроме того заготавливаются бутылки (500 см<sup>3</sup>) со стерильной водопроводной водой с горлышками, обернутыми до стерилизации бумажными колпачками. Такими же колпачками обертываются горлышки банок со средой.

Для взятия проб поступают следующим образом. На сложенные «лодочкой» ладони обследуемого поливается 100 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора, и стерильным тампоном (тампоны заготовлены по числу обследуемых) протирают кожу ладоней, смывая в налитую на руки жидкость грязь, находящуюся на коже.

После этого промывная вода сливается непосредственно с рук в открытую банку со средой Bulir.

Зараженные таким образом банки ставятся затем в термостат, и присутствие в той или иной пробе *V. coli* определяется так же, как и при исследовании воды на солититр (отбор забродивших банок, высев на Эндо, выделение чистых культур и идентификация).

Многу было проведено такого рода обследование среди служащих железнодорожных буфетов и столовых Октябрьской ж. д. в Ленинграде.

Полученные результаты видны из таблицы на стр. 293.<sup>1</sup>

При повторных обследованиях получилось 80% совпадений.

Такая частота находок свидетельствует о большой опасности передачи заразы в случае появления носителя и заставляет заранее проводить меры по надлежащей очистке рук пищевиков.

Средний процент находок *B. coli* на руках пищевиков по данным Buice, Sehested и Dienst, впервые применивших этот метод среди служащих нескольких ресторанов в Америке, равен 8,38%—в 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> раза меньше, чем в моем опыте.

## ГЛАВА ЧЕТЫРНАДЦАТАЯ

# КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ ПО ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНАЦИИ

## ВВЕДЕНИЕ

Вопрос о действительности предохранительных прививок вакцинами в настоящее время не вызывает сомнений. Имеются лишь разногласия в оценке продолжительности получаемого иммунитета и той или иной степени успешности.

В настоящее время наиболее часто и в больших масштабах применяются прививки при помощи: 1) подкожного впрыскивания вакцин Kolle против холеры, тифа и паратифа; 2) энтеральной вакцинации (таблетки и густая жидкость против дизентерии по Безредка); 3) смесей токсина с антитоксином или анатоксина—токсин, обезвреженный действием формалина (по Ramon)—против дифтерии; 4) скарлатинозной стрептококковой вакцины (Габричевского, Златогорова) и токсина (Dick) или их смеси (Коршун) подкожно и вирус-токсином путем ингаляции (Белоновский и Миллер) против скарлатины; 5) энтеральной вакцинации против туберкулеза по Callmett.

За границей находят себе применение прививки против цереброспинального менингита и эпидемической инфлюэнцы (в указанный перечень не входит общеизвестное оспопрививание и антирабические прививки).

Общие принципы организации заключаются в следующем. Прививки следует проводить з а б л а г о в р е м е н н о, а не тогда, когда эпидемия уже появилась. По мнению Friedberger то, что мы называем появлением эпидемии, есть лишь появление наиболее ярко выраженных случаев заболевания, появляющихся тогда, когда вирус достаточно усилился, на самом деле это уже конец или во всяком случае вторая половина эпидемии. Прививки следует начинать при наличии даже одного предположения о возможности появления эпидемии или на основании законов цикличности эпидемий (скарлатина и дифтерия), или на основании имеющихся соображений о возмож-

<sup>1</sup> Идентификация производилась по американской стандартной методике.

ности заноса инфекции из другой зараженной местности, в особенности если нет возможности от такого заноса оградиться другими мерами. В случае ограниченных возможностей по проведению широкой вакцинации последнюю проводить среди групп населения, наиболее ценных в социальном отношении, наиболее опасных в эпидемиологическом отношении, либо наиболее подвергающихся заражению (например персонал столовых, с одной стороны, и персонал больниц—с другой стороны, также военные части, группы сезонных рабочих, персонал транспорта и т. п.).

Если к прививкам приступают уже после появления первых заболеваний, следует при применении той или иной вакцины учесть результаты бактериологического обследования эпидемии. В противном случае иммунизация может в значительной части остаться безрезультатной и дискредитированной в глазах населения. Так, описаны случаи производства прививок против тифа, в то время как последующее обследование показывало, что значительная часть заболеваний вызывалась паратифозными палочками.

При организации прививок против паратифа и особенно против дизентерии весьма желательно готовить вакцину обязательно из штаммов, выделенных от больных местной эпидемии.

Это общее правило для применения вакцины в указанных случаях особенно нуждается в выполнении, так как большое количество разновидностей в группах этих микроорганизмов, подчас сильно отличающихся антигенными свойствами, может повести к безуспешной вакцинации.

В последней инструкции по приготовлению тифозной вакцины для английской армии имеется требование готовить вакцины из S-Form как наиболее полноценной в антигенном отношении.

## **ПОДКОЖНАЯ ВАКЦИНАЦИЯ ПРОТИВ ХОЛЕРЫ, ТИФА И ПАРАТИФОВ**

Так как методика подкожной вакцинации против холеры, тифа и паратифов является вполне установившейся, мы приведем без комментариев инструкцию НКЗдрава по производству прививок, заключающую в себе все необходимые сведения (из последних монографий см. Б е р н г о ф, Предохранительные прививки против холеры и брюшного тифа, 1928).

### **ИНСТРУКЦИЯ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРЕДОХРАНИТЕЛЬНЫХ ПРИВИВОК ПРОТИВ БРЮШНОГО ТИФА, ХОЛЕРЫ И ПАРАТИФОВ**

(объявлена при приказе по Военсанведу от 14.II. 1921 г. за № 30 с поправками и дополнениями согласно инструкции НКЗдрава от 10.V. 1932 г.)

#### **О б щ а я   ч а с т ь**

Вакцины, приготовляемые по способу Колле, представляют собой эмульсию убитых нагреванием возбудителей соответствующих инфекционных болезней. Для получения вакцин по этому способу культура возбудителя смывается сагара физиологическим раствором, нагревается в течение одного часа до 55—60°, затем разводится тем же раствором с таким расчетом, чтобы в 1 см<sup>3</sup> вакцины содержалось определенное количество бактерий (см. ниже). После остывания

к вакцине прибавляют карболовую кислоту в количестве 0,5% во избежание возможного бактериального загрязнения извне при дальнейших манипуляциях. Приготовленная таким образом вакцина проверяется на стерильность и разливается в сосуды различной емкости, которые герметически закупориваются.

Вакцина представляет собой равномерно мутную жидкость, которая при стоянии образует осадок, состоящий из бактериальных тел. Ввиду этого перед употреблением необходимо энергичное взбалтывание вакцины до получения равномерной муты.

К каждой упаковке с вакциной прилагаются наставление и нижеследующие данные: 1) место изготовления вакцины, 2) время изготовления, 3) доза вакцины, 4) содержание бактерий в 1 см<sup>3</sup>, 5) номер серии и 6) номер госконтроля.

Непригодной для прививок вакцина является в тех случаях, когда в ней образуются хлопья, не разбивающиеся при самом энергичном взбалтывании, а также тогда, когда вакцина представляет почти прозрачную жидкость, что происходит от растворения бактериальных тел.

Ввиду того что замораживание вакцины и последующее ее оттаивание делают обычно вакцину непригодной, что выражается в появлении упомянутых хлопьев, необходимо при пересылке и хранении вакцины в зимнее время принимать все меры к тому, чтобы вакцина не замерзла. В летнее время вакцину надлежит хранить в прохладном месте.

В темном и прохладном месте вакцина может сохраняться до 2 лет.

Бактериологические институты НКЗдрава изготовляют в настоящее время следующие вакцины:

№ п/п.	Название	Количество бактериальных тел в 1 см <sup>3</sup>
1	Брюшнотифозная моновакцина	1 млрд. брюшнотифозных палочек
2	Паратифозная В	500 млн. палочек паратифа В
3	» А	1 млрд. палочек паратифа А
4	Холерная моновакцина	4 млрд. холерных вибрионов
5	Дивакцина: холера—тиф	2 млрд. хол. вибр. и 500 млн. брюшнотиф. палочек
6	» тиф—паратиф В	1 млрд. брюшнотиф. и 500 млн. паратиф. палочек
7	» тиф—паратиф А	То же
8	Тривакцина: тиф—паратиф А и В	1 млрд. брюшнотиф. и по 250 млн. паратифозных палочек
9	Тетравакцина: холера—тиф—паратиф А и В	2 млрд. холерных вибр., 500 млн. брюшнотиф. и по 250 млн. паратиф. палочек.

### Противопоказания к прививкам

1. Острые заразные заболевания противопоказуют прививки.
2. При хронических заболеваниях прививки противопоказаны в случаях нефритов, некомпенсированных сердечных страданий и всякого рода кахексий. Особенно осторожным надо быть при прививках туберкулезным, где надлежит строго индивидуализировать каждый отдельный случай.
3. Реконвалесцентам и временно очень утомленным людям прививки противопоказаны.
4. Беременным во вторую половину беременности прививки противопоказаны.
5. Вакцинация в разгаре эпидемии не противопоказана.
6. Одновременная прививка бактериальной вакцины и оспенной не противопоказана.

Противопоказания к прививкам устанавливаются на основании анамнеза, отбираемого у каждого из прививающихся перед прививками, и объективных данных, получаемых путем осмотра. В малярийных местностях перед прививками рекомендуется предварительная дача хинина в дозах 0,3—0,5.

## Время для производства прививок

Так как высшая степень реакции обычно наблюдается через 6—12 часов после вырыскивания, надлежит вакцинацию производить по возможности ближе к вечеру, чтобы период максимума реакции пришелся на ночь.

## Наставление прививаемым

При всех массовых вакцинациях наставления прививаемым должны даваться врачом, причем необходимо предупреждать о реакциях организма на прививки, не преуменьшая в предсказании этих явлений; необходимо также подчеркнуть, что прививка, являясь могучим средством в борьбе с инфекциями, не дает однако абсолютной гарантии невосприимчивости, а потому все меры личной и общественной предосторожности должны оставаться в силе.

Кроме устных наставлений надлежит раздавать при прививках листовки, поясняющие цель прививок и их значение.

## Техника производства прививок

Вакцинация должна сопровождаться всеми асептическими предосторожностями. Приступая к вакцинации, в стерилизатор кладут несколько шприцев и иголок. Для каждого лица должна употребляться отдельная игла, которая бросается после употребления в стерилизатор с кипящей водой на 5 мин. Шприц наполняется вакциной после полного остывания.

Перед наполнением шприца вакцина должна быть тщательно взболтана до появления равномерной муты. Вакцину, отпускаемую в ампулах, насаживают в шприц непосредственно из ампулы, удалив шейку ее путем надреза напильником или краем стекла; вакцину же, отпускаемую в склянках, надлежит предварительно вылить в стерильную рюмку или стаканчик, держа последние во время прививки закрытыми стеклом или бумагой.

Наилучшими местами для прививок являются: спина под углом лопатки, подключичная область (между ключицей и соском), а также левая рука позади дельтовидной мышцы, пальца на два ниже аксиллярной складки. Указанные места бедны нервами и содержат рыхлую клетчатку, куда и надлежит впрыскивать вакцину. Не следует вводить вакцину в мышцы и ни в коем случае не вырыскивать вакцину в вещество самой кожи во избежание некрозов.

Место впрыскивания должно быть дезинфицировано—проще всего путем смазывания йодом, после чего большим и указательным пальцами левой руки кожа захватывается в складку и игла вводится у основания этой складки в центр ее, в подкожную клетчатку.

## Клинические явления после прививки

Реакция организма на введенную вакцину бывает общая и местная.

**Общие явления.** Известную степень недомогания после прививок можно наблюдать почти в каждом случае. Сила реакции—явление индивидуальное и зависит не только от свойства вакцины, но и от особенностей организма, в который она вводится. В редких случаях приходится наблюдать слабость, дрожь, наклонность к обморокам, боли в суставах и желудочно-кишечные явления (понос, рвота). Если эти явления имеют место, то они наблюдаются уже в первые часы по вырыскивании. За этими продромальными явлениями могут последовать головная боль и повышение температуры тела. Высота ее подъема обычно не превышает 37,5—38,0°, в редких случаях достигая 39,5°. Все эти явления редко длятся дольше 1—2 суток и в большинстве случаев никакого терапевтического вмешательства не требуют. Тифозная вакцина дает более резкую реакцию, нежели холерная. Сложные вакцины по реакции не отличаются от моновакцин.

**Местные явления.** В каждом случае развиваются местный отек и болезненная припухлость, которая становится заметной обыкновенно часов шесть спустя после прививки. Несколько позже вокруг места прививки развивается краснота. Опухоль достигает высокого развития часов через 18.

Краснота в редких случаях достигает довольно большого распространения а иногда от места прививки тянутся припухшие лимфатические сосуды и увеличиваются ближайшие лимфатические железы. Все эти явления обычно исчезают к концу вторых суток.

В некоторых случаях при резких общих явлениях местная реакция может совершенно отсутствовать.

Несоблюдение правил асептики может обусловить появление гнойных процессов. При одновременном возникновении гнойных процессов у многих лиц прекращают применение данной серии вакцины и образцы высылают в Контрольный институт НКЗдрава.

### Режим после прививок

1. Вслед за прививкой привитый должен соблюдать возможно полный покой. Если чувствуется слабость или недомогание, то следует лечь тотчас в постель, что значительно уменьшает эти явления.

2. Привитые, сильно реагировавшие в первые часы на прививку, безусловно должны быть освобождены на другой день от занятий.

3. Вообще все клинические явления проходят и без терапевтического вмешательства; в особенно же резких случаях показано симптоматическое лечение: при рвоте—глотание кусочков льда, очень сильные отеки и болезненная напряженность значительно уменьшаются от горячих компрессов, при повышении температуры рекомендуется аспирин и т. д.

### Дозировка вакцины

Если нет особых указаний в прилагаемом к вакцине наставлении, то вакцины, изготовленные для настоящей прививочной кампании, вводятся в следующих дозах с промежутком в 5—10 дней.

Холерно-брюшнотифозная дивакцина и холерно-брюшнотифозная—А и В паратифозная тетравакцина на 1-ю инъекцию—1 см<sup>3</sup>, на 2-ю—2 см<sup>3</sup> и на 3-ю—2 см<sup>3</sup>.

Для всех моновакцин, брюшнотифозно-паратифозных дивакцин и тривакции соответственно 0,5; 1,0; 1,0 см<sup>3</sup>.

Для ослабленных организмов надлежит применять  $\frac{1}{2}$  и  $\frac{3}{4}$  вышеозначенных

Детям от 2 до 5 лет рекомендуется вводить  $\frac{1}{3}$  дозы взрослого, от 5 до 10 лет— $\frac{1}{2}$  дозы взрослого, а от 10 до 15 лет— $\frac{2}{3}$  ее.

Если вторую прививку не удалось сделать в течение 10 дней после первой, то таковую следует считать недействительной и начинать сначала.

Для получения невосприимчивости никогда не следует ограничиваться одной прививкой, а требуется делать два и даже по возможности три впрыскивания с указанными промежутками.

При сильных реакциях дозы при последующих инъекциях не увеличиваются. При ревакцинации через год ограничиваются двумя инъекциями в 1,0 и 1,5 см<sup>3</sup>.

### Срок действия вакцины

Достигнутая вакцинацией невосприимчивость держится до 1 года, после чего прививка должна быть повторена с наступлением новой прививочной кампании. В зимнее время прививки надлежит делать лишь в районах, неблагополучных по той или иной эпидемии.

На всех привитых составляются списки или еще лучше, если регистрация производится карточной системой.

## ВАКЦИНАЦИЯ PER OS ПРОТИВ ДИЗЕНТЕРИИ, ТИФА, ПАРАТИФОВ И ХОЛЕРЫ

В настоящее время происходит проверка методики иммунизации per os, предложенной Безредка. Принцип иммунизации per os (энтеральной) заключается во введении иммунизующего материала через кишечник; при этом достигаются местная иммунизация слизистой кишечника и кроме того образование общего иммунитета от всасывания вакцины через слизистую кишечника в кровяное русло (Заболотный). Преимущества энтеральной вакцинации в ее безболезненности и отсутствии реакций (при правильном применении).

Благоприятное действие вакцинации per os доказано работами Безредка, Nicolle, Conseil, Anglade, Антоновского, Златогорова,

Берестнева и др. Но вопрос о выборе того или иного материала, дозировки и методики применения находится еще в стадии разработки. Поэтому при проведении вакцинации *per os* надлежит руководствоваться указаниями институтов, отпускающих вакцину, которые и осуществляют научный контроль опытов по энтеровакцинации.

Энтеровакцина готовится в виде таблеток или густой жидкой взвеси.

Наблюдения Безредки и других показали, что вакцинация наиболее успешна при предварительной сенсibilизации кишечника.

Для достижения последней употребляют желчь, какао (Садов) и дизентерийную вакцину. Последняя сама по себе является сенсibilизатором. Поэтому дизентерийная вакцина применяется без сенсibilизатора и может даже служить таковым при вакцинации другими микробами, для чего к вакцине из последних подмешивают некоторое количество убитых дизентерийных палочек (20—30%).

Главнейшими препаратами, употребляемыми в настоящее время, являются следующие:

- 1) жидкая алкогольная вакцина;
- 2) жидкая вакцина, консервированная молочной кислотой;
- 3) та же, консервированная карболовой кислотой;
- 4) таблетки простые,
- 5) таблетки с какао.

В качестве сенсibilизаторов лучше употреблять какао или дизентерийную вакцину. Желчь оказывает слишком сильное раздражающее действие (Клюхин).

Обычно применяемая дозировка: по 100 миллиардов бактерий взрослым три дня подряд. Для детей от 5 до 10 лет—половинная доза, а до 5 лет—четверть дозы. Прием вакцины производится утром натощак. После приема ее следует два часа воздерживаться от пищи.

Противопоказаниями являются различные желудочно-кишечные расстройства.

Энтеральная вакцинация является особенно показанной при дизентерии, так как подкожная инъекция дизентерийной вакцины в силу ее большой токсичности как правило ведет к появлению сильнейшей реакции и поэтому практически является неприемлемой.

Далее энтеровакцина особенно показана и при других инфекциях в случаях наличия противопоказаний к подкожной вакцинации.

Наиболее благоприятные результаты получены при дизентерийной вакцинации *per os*. Энтеральная вакцинация против тифа и холеры пока еще недостаточно проверена в отношении степени успешности. Подробную инструкцию по проведению научных опытов по энтеровакцинации см. циркуляр НКЗдрава № 148 10. V. 1932 г.

## **ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ПРОБА SCHICK И АКТИВНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ ПРОТИВ ДИФТЕРИИ**

Употребление дифтерийного токсина для отличия восприимчивых детей от невосприимчивых и активная иммунизация смесью токсина и анитоксина уже завоевали себе право гражданства и могут широко применяться для практической работы. Диагностическая проба Schick заключается в следующем: если мы введем внутри-

кожно  $1/_{40}$  смертельной дозы дифтерийного токсина, то восприимчивые субъекты дадут положительную реакцию, а невосприимчивые отрицательную.

Это позволяет в случае надобности производить например при появлении заболеваний в школе или других случаях отбор восприимчивых детей с целью их изоляции или производства им предохранительных прививок. Дети, давшие отрицательную реакцию, в иммунизации не нуждаются.

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРОИЗВОДСТВУ РЕАКЦИИ ШИКА

(при циркуляре НКЗдрава № 198 от 8. X. 1925 г.).

1. Для реакции Шика берется  $1/_{40}$  однократной смертельной дозы токсина для морской свинки весом в 250,0 ( $1/_{40}$  DLM).

2. Отряды и лица, работающие в месте нахождения лаборатории, изготовляющей токсин, получают из нее готовый разведенный токсин, разлитый в стерилизованных склянках из стойкого стекла, по возможности темного. При условии хранения разведенного токсина в темном прохладном месте (на леднике) он годен к употреблению в течение 2 дней.

3. Отряды и лица, работающие на периферии, получают чистый токсин и разводят его сами в количестве, потребном для прививок в течение 2 суток, по следующему способу: берут 100 DLM, т. е. 100 смертельных доз токсина, и добавляют до  $10\text{ см}^3$  физиологического раствора; например если смертельная доза, обозначаемая DLM, равна  $0,0045\text{ см}^3$ , то для разведения берут  $0,45\text{ см}^3$  токсина и прибавляют  $9,55\text{ см}^3$  физиологического раствора; получается разведение № 1, в котором 100 смертельных доз токсина содержатся в  $10\text{ см}^3$ , 1 смертельная доза — в  $0,1\text{ см}^3$ .

Для реакции Шика необходима  $1/_{40}$  смертельной дозы, содержащейся в  $0,2\text{ см}^3$ . Чтобы получить такое разведение, нужно первое разведение разбавить в 80 раз, т. е. взять  $1\text{ см}^3$  разведения № 1 и добавить  $79\text{ см}^3$  физиологического раствора—это и есть нормальное разведение токсина для реакции Шика.

Самая техника разведения следующая: в пузырек отмеривают градуированной пипеткой такое количество физиологического раствора поваренной соли, которое вместе с 100 DLM дало бы  $10\text{ см}^3$ , например  $9,55\text{ см}^3$  для токсина, у которого DLM равняется  $0,0045\text{ см}^3$ , а в другой пузырек той же пипеткой отмеривается  $79\text{ см}^3$  физиологического раствора. В первый пузырек пипеткой в  $1\text{ см}^3$  с делениями в  $1/_{100}\text{ см}^3$  добавляются 100 DLM, т. е. на нашем примере  $0,45\text{ см}^3$  токсина. Тщательно смешав той же пипеткой токсин с физиологическим раствором и промыв этим разведением пипетку 5—6 раз, из первого пузырька берут  $1\text{ см}^3$  разведения и прибавляют во второй пузырек с отмеренными  $79\text{ см}^3$  физиологического раствора. Получается окончательное разведение для реакции Шика. Отсюда для впрыскивания берется  $0,2\text{ см}^3$ .

**П р и м е ч а н и е.** Для упрощения техники разведения удобно определенные количества токсина и физиологического раствора, употребляемые для разведения, отпускать каждое отдельно в запаянных стеклянных ампулах.

4. Впрыскивание производится строго интракутанно, т. е. в толщу кожи, причем в левую руку впрыскивается активный токсин, а в правую для контроля тот же токсин и в той же дозе, но инактивированный кипячением на водяной бане в течение 10 минут.

5. Инъекция делается лучше всего однограммовым туберкулиновым шприцем с хорошо пригнанной к нему тонкой иглой № 18 или № 17 с коротким режущим концом. Можно пользоваться также обыкновенным однограммовым шприцем. Шприц и иглы должны быть безусловно стерильны. Для каждого впрыскивания берется обязательно особая игла. Стерилизация шприца и игл производится кипячением в воде; при употреблении платиновых игл последние прожигаются на пламени спиртовой лампы. Кожа на месте укола протирается стерильной ватой, смоченной  $60^\circ$  спиртом. Через вновь надетую иглу пропускаются 1—2 капли содержимого шприца.

**П р и м е ч а н и е.** Для набирания токсина из флакона рекомендуется более толстая игла, стерилизуемая всегда кипячением.



6. Разведенный токсин впрыскивается в количестве 0,2 см<sup>3</sup> в кожу середины плеча левой руки или посредине ладонной поверхности предплечья; для получения правильного результата вся процедура инъекции производится следующим образом: игла надевается на шприц срезанной стороной к той поверхности шприца, где находятся деления; шприц держится делениями вверх почти параллельно поверхности кожи; левой рукой натягивается кожа, а правой игла медленно вкалывается, пока весь срезанный конец ее не будет введен под кожу так, чтобы он просвечивал через эпидермис. Затем медленно вводится при довольно большом сопротивлении 0,2 см<sup>3</sup> раствора и игла быстро извлекается. При правильном впрыскивании получается небольшая, но резко очерченная папула, покрытая мелкими точечками. Папулы должны исчезать не ранее как через несколько минут. Если работа в отряде производится двумя врачами, то один впрыскивает в левую руку нормальный (активный) токсин, другой—в правую контрольный (инактивированный). Если же прививает один врач, то небольшой группе детей сначала делается контрольное впрыскивание инактивированного токсина в правую руку, затем шприц промывается раза 2—3 разведенным активным токсином и тем же детям вводится в левую руку активный токсин. По окончании работы шприц и иглы промываются спиртом и эфиром и тщательно просушиваются.

7. Реакция Шика не производится при наличии у детей лихорадочного состояния.

8. Все дети, которым сделана реакция Шика, регистрируются на индивидуальных картах предохранительной дифтерийной прививки (форма № 1).

**Примечание.** Врач учреждения обязан заполнить в недельный срок параграфы в индивидуальной карте, касающейся общего состояния здоровья детей.

9. Через 72 часа после инъекции производится проверка всех привитых, причем результаты заносятся в регистрационные карты со следующим обозначением:

а) Реакция положительная, если на левой руке на месте укола получается кожная реакция в виде инфильтрата и красноты при отсутствии реактивных явлений на правой руке; реакция обозначается +, если краснота в диаметре не превышает 1½ см, ++, если краснота в диаметре от 1½ до 3 см, +++, если больше 3 см.

б) Реакция ложная, когда инфильтраты одинаковы на обеих руках и остаются таковыми при второй проверке; обозначается по ее степени, подобно истинной реакции—одним, двумя или тремя знаками v, vv, vvv.

в) Реакция положительная, комбинированная, когда инфильтраты от активного токсина больше, чем от контрольного, например для левой руки ++ и для правой vv.

г) Реакция сомнительная, когда инфильтрат на левой руке выражен неясно, но на правой руке совсем отсутствует; обозначается через ±.

д) Реакция отрицательная, когда инфильтрат отсутствует на обеих руках; обозначается через 0.

**Примечание.** При учете результатов реакции Шика ложные и сомнительные реакции относятся к отрицательным, а комбинированные—к положительным.

10. На основании результатов проверок составляется общая оценка реакции Шика и данные заносятся на индивидуальную карту привитого (форма № 1).

11. По окончании производства реакции Шика и во всяком случае не реже одного раза в месяц врачами, производившими реакцию, составляются на основании заполненных ими индивидуальных карт сводные таблицы по учреждениям (форма № 2) и по возрастам (форма № 3), направляемые в санитарно-профилактический отдел для разработки.

Для более продолжительного сохранения активности дифтерийного токсина, разведенного до концентрации, употребляющейся при диагностической пробе Schick, Glenny, Faddington и Pope предложили разводить токсин не физиологическим раствором, а в обратнобуферном растворе, приготовляемом по следующему рецепту:

Дистиллированной воды	10 л
Кристаллической буры (Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> ·10H <sub>2</sub> O)	35,6 г

Борной кислоты ( $H_3BO_3$ ) . . . . .	52,5 г
Хлористого натрия ( $NaCl$ ) . . . . .	62 »
рН раствора = 8—8,4	

Стерилизуется в автоклаве. Применение для разведений этого раствора позволяет сохранять активность разведенного токсина при комнатной температуре до 2—4 недель, а на леднике и дольше. Следует только отметить, что разные серии токсинов дают разные сроки хранения, и поэтому рекомендуется (Вержиковский и Гогин) определять предельный срок хранения для каждой серии токсина. Посуда для разливки токсина не должна быть из слишком щелочного стекла.

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ АКТИВНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ДИФТЕРИИ

(при циркуляре НКЗдрава № 198 от 8. X. 1925 г.)

1. Активная иммунизация производится санитарно-профилактическим отделом соответствующего губздравпа под научным руководством и контролем местного бактериологического института или санитарно-бактериологической лаборатории. В последнем случае каждый раз с разрешения НКЗдрава.

2. Для активной иммунизации употребляется нейтральная смесь дифтерийного токсина с антитоксином—Lo-смесь или 0,1 Lt-смесь (американская). Означенная смесь получается из соответствующего бактериологического института по визам санитарно-профилактического подотдела.

3. Перед выпрыскиванием смесь тщательно взбалтывается. Смесь сохраняется в темном прохладном месте и действительна в течение одного месяца со дня получения ее из бактериологического института. Замерзнувшая смесь к употреблению негодна. Флакон со смесью, открытый для употребления, должен быть использован сейчас же и на другой день уже не годится.

4. Дети от 6 месяцев до 5 лет включительно подлежат иммунизации независимо от характера реакции Шика, и предварительная реакция Шика им поэтому может не производиться. Из детей 3—6-месячного возраста при наличии эпидемии иммунизируют всех тех, которые реагировали положительно по Шикку. По достижении этой группы детей 6-месячного возраста всем неиммунизированным делается иммунизация независимо от реакции Шика. Дети старше 5 лет иммунизируются лишь при наличии положительной реакции Шика.

5. Иммунизация проводится трехкратными инъекциями в следующей дозировке для детей старше 6 месяцев: для первой инъекции берется 0,2 см<sup>3</sup> нейтральной смеси, для второй—0,4 см<sup>3</sup>, для третьей—0,6 см<sup>3</sup>. Для детей от 3 до 6-месячного возраста, а также для лиц с комбинированной или ложной реакцией Шика и для слабых и истощенных для первой инъекции берется 0,1 см<sup>3</sup>, для второй—0,2 см<sup>3</sup>, для третьей—0,3 см<sup>3</sup>. Если получается значительная местная, а особенно температурная реакция, то последняя доза повторяется. Если применяется 0,1 Lt-смесь (американская), то инъекции производятся также трехкратно, в дозах по 1,0 см<sup>3</sup>.

6. Промежуток времени между первой и второй инъекциями равен 10—14 дням; между второй и третьей—7—10 дням. В том случае, когда по болезни ребенка или по каким-либо другим причинам инъекции в указанные сроки не удается произвести и промежутки удлиняются, то повторяют последнюю дозу.

7. Инъекции делаются под кожу под ключицей несколько кнаружи и книзу от ее середины или же сзади ниже лопатки.

8. Инъекции лучше всего делать однограммовым шприцем «рекорд» с хорошо пригнанной к нему иглой. Деления на шприце должны быть ясно и точно обозначены. Шприцы и иглы должны быть безусловно стерильными. Для каждого выпрыскивания берется обязательно свежестерилизованная игла. Стерилизация игл и шприца производится кипячением в воде; при употреблении платиновых игл последние прокаливается на пламени спиртовой лампы. Кожа на месте укола протирается ватой, смоченной 60° спиртом, или смазывается йодом. Через каждую иглу пропускаются 1—2 капли содержимого шприца для удаления из него воды.

Время производства инъекции отмечается в индивидуальной карте предохранительной дифтерийной прививки.

9. Перед активной иммунизацией всем детям предварительно измеряется температура: накануне вечером, утром в день впрыскивания и после впрыскивания не раньше как через 6 часов; затем утром на следующий день после инъекции. Детям с нормальной температурой дальнейшее измерение прекращается, лихорадящим—продолжается до прекращения лихорадки.

**П р и м е ч а н и е.** Детям в возрасте от 6 месяцев до 5 лет предварительное измерение температуры производится наравне со всеми, измерение же температуры у детей в указанном возрасте после введения смеси обязательно.

10. На другой день после инъекции производится проверка иммунизации: температура, общее состояние, местная реакция. Эти данные заносятся в индивидуальную карту предохранительной дифтерийной прививки (форма № 1).

**П р и м е ч а н и е.** В случае обнаружения при проверке резких реакций производится вторая проверка на третий день.

• 11. На основании совокупности всех данных после трехкратного впрыскивания делается общая оценка реакций и данные заносятся в параграф 15 индивидуальной карты со следующими обозначениями:

а) Реакция отсутствует, если нет ни местной, ни общей реакции.

б) Реакция слабая, если инфильтрат и краснота до  $4 \times 4$  см и температура не выше  $37,5^\circ$ .

в) Реакция средняя, если: 1) инфильтрат и краснота от  $4 \times 4$  см до  $10 \times 10$  см без повышения температуры, 2) инфильтрат и краснота меньше, но температура повышена от  $37,5$  до  $38^\circ$ .

г) Реакция резкая, если 1) инфильтрат и краснота больше  $10 \times 10$  см с повышением температуры до  $38^\circ$ , 2) инфильтрат и краснота меньше, но температура от  $38$  до  $38,5^\circ$ .

д) Реакция очень резкая, если имеется значительный инфильтрат и температура выше  $38,5^\circ$ .

12. Противопоказания к активной иммунизации:

а) Острые инфекционные заболевания.

б) Температура выше  $37,5^\circ$  при измерении *per rectum* без вычета у детей до 3 лет, а старше 3 лет— $37,3^\circ$  при измерении в подмышечной впадине.

в) Активный туберкулез.

г) Болезни почек в острой стадии.

д) Декомпенсированный порок сердца.

е) Тяжелые нервные расстройства.

ж) Острые расстройства пищеварения.

з) Декомпозиция.

13. Через 3 месяца после иммунизации проверяется иммунитет посредством реакции Шика; дети, сохранившие положительную реакцию Шика, иммунизируются вторично, но не раньше 6 месяцев по окончании первой иммунизации.

14. Врачи тех учреждений, в которых проведена активная иммунизация, обязаны доводить об этом до сведения санитарно-профилактического отдела.

Кроме указанной в инструкции смеси токсина и антитоксина в некоторых местах с успехом применяется для иммунизации против скарлатины анатоксин. Последний представляет собой скарлатинозный стрептококковый токсин, обезвреженный формалином по Ramon.

## **АКТИВНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ ПРОТИВ СКАРЛАТИНЫ И ПРОБА DISK**

### **Введение**

Вопрос о предохранительных прививках при скарлатине находится еще в стадии разработки.

Несмотря на большое количество работ, посвященных этому вопросу, еще нет общепринятого способа иммунизации, и полученные

результаты еще недостаточны для того, чтобы применять тот или иной метод в виде признанной практической профилактической меры. Тем не менее уже полученные результаты настолько благоприятны, что позволяют рекомендовать некоторые способы (постановление съезда бактериологов, эпидемиологов и санитарных врачей, 1928 г.) для проведения в виде широкого научного опыта окончательного выяснения их действительности.

Наиболее разработанным и имеющим наибольший статистический материал является метод иммунизации комбинированной вакциной (Коршун). Под последней понимают смесь стрептококковой вакцины Габричевского с определенным количеством скарлатинозного стрептококкового токсина Dick. Метод местной иммунизации (Белонковский, Миллер) при скарлатине также признан тем же съездом теоретически обоснованным и рекомендован для проверки на большом материале под научным контролем.

Ввиду важности борьбы со скарлатиной ниже приводятся основания и способы главнейших методов, но неразработанность вопроса заставляет считать приводимые данные (дозы, сроки иммунитета, оценка результатов) не окончательными, а подлежащими проверке в процессе широких наблюдений под строгим научным контролем. Поэтому всякое проведение прививочной компании должно проходить под наблюдением вполне компетентных научных работников. Кроме того необходимо каждый раз получать от соответствующих институтов точные указания дозировки и методики проведения.

### **Иммунизация вакциной Габричевского**

Габричевский в 1905 г. первый предложил при скарлатине профилактическую иммунизацию убитыми культурами стрептококка, выделенного от скарлатинозных больных.

Предлагая такую вакцинацию, Габричевский писал: «Болезнетворная роль стрептококков не требует доказательств, а потому я могу предложить применять нашу вакцину независимо от того, какой точки зрения придерживаются еще многие врачи относительно роли стрептококков при скарлатине».

В другом месте он говорит: «В случае если стрептококк есть действительно специфическое заразное начало скарлатины, мы можем ожидать от вакцинации уменьшения заболеваемости и смертности от скарлатины; в случае же, если стрептококк только осложняет основную заразу иного происхождения, можно рассчитывать по крайней мере на уменьшение смертности от этой болезни. И в том и другом случае вакцинация может служить новым, вполне доступным по своей дешевизне средством в борьбе с одной из самых тяжелых болезней детского возраста».

Из этого мы видим, что Габричевский хотя и склонялся к признанию этиологической роли стрептококка, но не считал такую роль вполне доказанной и тем не менее предложил свою вакцинацию.

### **Применение вакцины Габричевского**

(По циркуляру НКЗдрава 1924 г.)

Скарлатинозная вакцина есть сгущенная бульонная разводка стрептококков, выделенных из крови скарлатинозных больных,

убитая нагреванием до  $56^{\circ}$  с прибавлением к ней  $1/2\%$  раствора карболовой кислоты.

Вакцина имеет значение не лечебное, а только предохранительное по отношению к стрептококковой инфекции при скарлатине.

Вакцина после встряхивания ее для получения равномерной муты набирается стерильным шприцем и впрыскивается в подкожную клетчатку живота или спины в 1-й раз в количестве  $1/2$  см<sup>3</sup> (для детей от 2 до 10 лет), а затем с промежутками в 7—10 дней еще два раза, увеличивая дозу каждый раз в полтора-два раза сообразно с полученной при предыдущем впрыскивании реакцией, причем следует по возможности избегать температуры  $39^{\circ}$ .

Доза для детей до 2 лет—вдвое меньше, а для взрослых—вдвое больше. Кроме повышенной температуры получают еще явления общего недомогания и местно—болезненная припухлость с гиперемией кожи, иногда с припуханием ближайших лимфатических желез. В некоторых случаях наблюдаются рвота, краснота зева и сыпь, похожая на скарлатинозную. Все явления реакции проходят в 1—3 суток.

Вакцину правильнее всего применять до появления эпидемии скарлатины, а там, где она уже обнаружилась,—особенно в семьях, в которых изоляция здоровых невозможна,—вакцинацию лучше соединить с впрыскиванием противоскарлатинозной сыворотки в количестве 25—50 см<sup>3</sup>, которая в сравнении с вакциной дает менее продолжительный иммунитет, но зато наступающий непосредственно за впрыскиванием. В этом случае следует в 1-й раз сделать одновременно, но в разные места впрыскивания вакцины и сыворотки, а следующие впрыскивания производить одной только вакциной.

При массовых прививках—в приютах, школах, казармах и деревенских условиях—вакцинация без применения сыворотки может быть произведена и при наличии скарлатинозных заболеваний.

Раньше для предохранительных прививок применялись следующие дозы для первой инъекции:

Детям от	6 мес.	до	2 лет	.	.	.	.	.	0,15
»	»	2	»	5	»	.	.	.	0,3
»	»	5	»	10	»	.	.	.	0,5
»	»	10	»	15	»	.	.	.	0,7
Взрослым	не более				.	.	.	.	2,0

При умеренной или слабой реакции после первой прививки дозы для второй и третьей инъекций увеличивались в  $1\frac{1}{2}$ —2 раза в зависимости от силы реакции.

При сильной реакции дозы оставались те же.

Противопоказания при вакцинации по Габричевскому те же, какие существуют при других подкожных вакцинациях: острые лихорадочные состояния, явный туберкулез, беременность, болезни почек. На последнее следует обратить особое внимание ввиду частого поражения почек при вакцинации. Вообще при всяком резко выраженном болезненном состоянии рекомендуется воздержаться от прививки или во всяком случае уменьшить дозу.

Реакции на прививку обычно бывают всегда, не реагируют лишь 10—20%. Часто бывает не только местная реакция, выражающаяся

в припухлости, гиперемии и болезненности, но и общая—подъем температуры до  $38^{\circ}$  и выше, озноб и другие вышеописанные явления.

### Учение о скарлатинозном стрептококковом токсине

Со времени работ Dick, Zingher и др., установивших способность гемолитического стрептококка, выделенного от скарлатинозных больных, вырабатывать специфический токсин, арсенал орудий борьбы со скарлатиной обогатился еще одним средством—антитоксической иммунизацией и кожной пробой на восприимчивость. Токсин, вырабатываемый скарлатинозным стрептококком, в жидких средах обладает между прочим следующими свойствами.

Введение 1 STD<sup>1</sup> внутривенно дает положительную реакцию у восприимчивых к скарлатине и у невосприимчивых—отрицательную.

Dick и др. придают токсину стрептококка большое значение в патогенезе скарлатины, поэтому иммунизация им является показанной.

Иммунизация таким токсином, особенно в смеси с телами стрептококков дает ясный предохранительный эффект против скарлатины.

Хотя многое в учении о скарлатинозном токсине еще недостаточно разработано и даже не подтверждается рядом работ (см. М и л л е р, Этиология и специфическая профилактика скарлатины,<sup>2</sup> 1928), тем не менее учение это нашло себе практическое применение. Так, указанная кожная проба Dick (хотя механизм ее и причины еще неясны) позволяет отделять восприимчивых от невосприимчивых (по крайней мере среди не болевших скарлатиной). Это обстоятельство позволяет проводить следующее: в случае появления в школе заболеваний всем детям делается кожная проба. Дети, давшие отрицательную реакцию, считаются иммунными и могут продолжать посещать школу; дети же, давшие положительную реакцию, не допускаются к посещению школы, пока им не будет сделана иммунизация. Этим же способом можно разделять детей и вне наличия заболеваний для иммунизации лишь восприимчивых детей.

### Методика производства реакции Dick

Мы имеем токсин, стандартизованный тем или иным способом, и следовательно знаем, сколько STD содержится в 1 см<sup>3</sup>. Для производства реакции токсин надо развести физиологическим раствором (0,85% NaCl) с таким расчетом, чтобы в 0,1 см<sup>3</sup> разведенного токсина содержалось 1 STD; например данный токсин содержит в 1 см<sup>3</sup> 10 000 кожных доз, его надо развести так, чтобы в 0,1 содержалось 1 STD, или 1 см<sup>3</sup> 10 STD; следовательно его надо развести 1:1 000.

Токсин неразведенный не ослабевает в течение долгого времени (точно еще не установлено, но во всяком случае год и более). Уже разведенный для диагностической пробы токсин следует хранить не более 10 дней; хотя некоторые наблюдали неизменность силы разведенного токсина и более долгое время, но так как на силу токсина

<sup>1</sup> Под 1 STD понимают минимальное количество токсина, дающее положительную реакцию при введении восприимчивым людям (например только что заболевшим детям и т. п.) и не дающее реакции у невосприимчивых.

оказывают влияние качество стекла, температура и прочие условия хранения, которые могут быть различными, лучше не переходить указанного срока.

Следует обратить особое внимание на качество стекла и посуды, в которой сохраняется токсин как цельный, так и разведенный.

Если имеют в виду сделать контрольную пробу, то часть токсина разводят с таким расчетом, чтобы в 1 см<sup>3</sup> содержалось 12 STD, и кипятят в водяной бане один час. Избыток токсина (в 2 STD на 1 см<sup>3</sup>) берется ввиду частичного разрушения протеинов при кипячении.

Проба Dick заключается во внутрикожном введении 1 STD. В случае положительного результата через 6—8 часов появляются краснота и инфильтрат большей или меньшей силы; реакция достигает наибольшей силы через 24 часа и затем довольно быстро исчезает.

Чтобы исключить псевдореакцию, т. е. реакцию на неспецифические протеины, могущие находиться в жидкости, содержащей токсин, в другое место вводят внутрикожно кипяченный раствор токсина (контрольная проба). Так как токсин при этом разрушается, то наличие реакции от инъекции этой жидкости говорит за неспецифичность реакции, и она называется тогда псевдореакцией.

Кроме кипячения ранее употребляли в целях уничтожения специфических свойств токсина нейтрализацию его сывороткой выздоравливающего (25%), но сейчас после работ Park, установившего, что смесь токсина с одной и той же сывороткой выздоравливающего оказывается нейтральной для одних детей и токсичной для других (множественность токсинов и различная восприимчивость к ним), этот метод нейтрализации нельзя рекомендовать.

Производство самой инъекции следующее: в натянутую кожу сгибательной поверхности предплечья вводят иглу шприца в толщу эпидермиса; игла должна на всем протяжении просвечивать. Иглу вводят раструбом ее вверх до полного его закрытия эпидермисом. Когда это достигнуто, немедленно вводят 0,1 см<sup>3</sup> разведенного токсина; жидкость не должна вытекать наружу. При правильно произведенной инъекции на месте ее образуется пузырек, не исчезающий в течение нескольких минут.

Для инъекции следует пользоваться туберкулиновыми шприцами (0,5 см<sup>3</sup> с делениями на 0,01 см<sup>3</sup>) и иглами № 20.

Затем если имеют в виду сделать контрольную пробу, в другую руку вводят таким же образом 0,1 см<sup>3</sup> разведенного нагретого токсина.

Последнее время обычно контрольная проба не производится, так как токсин, приготовляемый по последним способам, почти не дает псевдореакций, а если и получается небольшой процент их, то практически они ничего не дают, ибо вопрос об отношении данного субъекта к токсину остается открытым и его все равно надо иммунизировать. Пожалуй учет псевдореакций имеет лишь значение для большей точности выяснения заболеваемости среди лиц, реагирующих положительно и отрицательно по Dick; лица с псевдореакциями должны при этом учитываться отдельно.

Определение результатов реакции производится через 24 часа (начало ее появления—через 6—8 часов после инъекции).

Степень реакции обозначается следующим образом (Zingher):

- а) Отсутствие реакции (иногда заметен лишь след от укола) —.
  - б) Легкая краснота диаметром меньше 1 см  $\pm$ .
  - в) Слабая краснота без инфильтрата диаметром более 1 см  $\pm$ .
  - г) Ясная краснота с инфильтратом диаметром более 1 см  $\pm$ .
  - д) Резкая краснота с инфильтратом диаметром в 2 и более см  $\neq$ .
- Положительной реакцией считаются лишь три последние степени. После 24 часов реакция быстро (на 5—6-й день) совершенно исчезает, иногда на месте укола остается незначительная пигментация и наблюдается незначительное шелушение.

При производстве контрольной инъекции в случае ее положительности результаты оцениваются следующим образом:

- а) Негретый токсин дает реакцию большей силы, чем гретый, — положительная псевдореакция.
- б) Реакция одинаковой силы — отрицательная псевдореакция (ложная протейновая).
- в) Негретый токсин дает реакцию меньшей силы, чем гретый, — извращенная реакция.

### Иммунизация чистым токсином Dick

В Америке принят следующий порядок (Dick и Zingher).

Сперва всем детям производится проба Dick. По Kolmer дети до 5 лет предварительно не испытываются, так как огромное большинство из них имеет положительную реакцию: на степень их реактивности может указать сила местной реакции на первое иммунизирующее впрыскивание.

Лица с RD— оставляются без иммунизации.

Лица с RD+ испытываются на носительство гемолитического стрептококка.

В случае присутствия последнего производится пассивная иммунизация с сывороткой, после которой приступают к активной иммунизации токсином.

В случае отсутствия в зеве гемолитического стрептококка иммунизация производится сразу токсином.

Противопоказаниями при иммунизации против скарлатины считаются: нефрит, некомпенсированный порок сердца, активный туберкулез; тяжелые нервные расстройства и общее лихорадочное состояние.

Иммунизация производится посредством подкожных инъекций возрастающих количеств токсина с интервалами в 7 дней. Токсин для иммунизации в настоящее время почти всеми употребляется неочищенным от белка.

Вопрос о дозировке и по настоящее время не может считаться установленным. Dick делает бывшим в соприкосновении со скарлатинозными больными обязательно пять инъекций, а для остальных считает возможным ограничиться тремя. Его дозировка: 1-я инъекция—500 STD, 2-я—1500, 3-я—5000, 4-я—15 000 и 5-я—20 000. Эти же пять доз рекомендует американский скарлатинозный комитет (Kolmer).

Данилевич в Ленинграде употреблял 250, 500, 750, 1 000, 2 000 STD. Коршун в Москве — детям до 5 лет: 250, 500, 750 STD и более старшим—500, 1 000, 1 500 STD.



На введение токсина многие дети отвечают местной и общей реакцией. Местная реакция выражается в красноте и инфильтрации размером в 10 и более сантиметров в поперечнике; общая реакция: подъем температуры до 38—39,0°, сыпь, ангина, поражение почек.

Как выше было описано, иногда получается полный симптоматический комплекс скарлатины до рвоты включительно.

Что же касается количества тяжелых реакций как местных, так и общих, то единообразия в различных местах нет.

По Коршуну сильные реакции наблюдаются в 3,1% случаев и средние—в 8,4%; у других авторов результаты иные и в сторону плюса и минуса.

Продолжительность иммунитета не установлена. По Коршуну и Спириной предположительно больше года.

### Иммунизация комбинированной вакциной (по Коршуну)

После появления работ по токсину скарлатинозного стрептококка возникла мысль соединить вакцинацию по Габричевскому и Dick в одно целое. Такая вакцинация носит название комбинированной вакцинации. В качестве иммунизирующего материала при этом употребляют (Коршун с сотрудниками) формализированную вакцину из гемолитических стрептококков, свежевыделенных от скарлатинозных больных, с определенным содержанием токсина.

Густота вакцины—1 миллиард микробных тел. Содержание токсина—2 000 STD в 1 см<sup>3</sup>.

Такой формалиновой вакциной были привиты 20 871 человек (из них в Москве—16 487). Было произведено эпидемиологическое наблюдение в течение 6—7 месяцев. За этот срок заболеваемость среди привитых оказалась в 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub>, а смертность в 26 раз меньше, чем среди непривитых.

В детских учреждениях результат прививок был менее хорош, а именно заболеваемость среди привитых снизилась в 2 раза, а смертность—в 20 раз.

На частоту осложнений прививки влияния не оказали.

При иммунизации вакцинами появлялась, правда изредка (в 0,02%), скарлатиноподобная сыпь, концентрировавшаяся главным образом на месте укола; сыпь эта долго не держалась (о реакциях на прививку см. ниже при изложении последних данных).

Из этих данных видно, что прививки формалиновой вакциной, содержащей токсин, оказывают благоприятное влияние на заболеваемость скарлатиной, причем этот вывод подтверждается материалами, полученными при проведении прививок в самое последнее время.

Коршун и Спирина рекомендуют после трех инъекций комбинированной вакцины вводить на четвертую вакцинацию чистый токсин.

Возраст детей	Дозировка Комбинированная вакцина				Токсин
	I	II	III	IV	
До 1 г. . . . .	0,1	0,2	0,4	3 000	STD
От 1 до 2 . . . . .	0,15	0,3	0,6	4 000	»
» 3 » 5 . . . . .	0,2	0,4	0,8	5 000	»
» 6 » 10 . . . . .	0,25	0,5	1,0	6 000	»
» 10 и более . . . . .	0,3	0,6	1,2	10—12 тыс.	»

В случае сильных реакций доза не должна увеличиваться. Интервалы между 1-й и 2-й прививками—7 дней и между последующими—10—14 дней.

Противопоказаниями Коршун считает лишь нефрит, некомпенсированный порок сердца и острые инфекции. Наблюдения им велись 6—12 месяцев.

Такие хорошие результаты следует объяснить поливалентностью вакцины и токсина и употреблением для приготовления их свежесделанных стрептококков.

Прививки комбинированными вакцинами с содержанием токсина в настоящее время широко применяются, в особенности в центральной части Союза, главным образом под контролем и руководством Мечниковского института в Москве.

Крестовникова на основании опыта Мечниковского института в Москве рекомендует следующую схему иммунизации.

Возраст	Комб. вакцина			Кожные дозы токсина	
	I	II	III	IV	V
$\frac{1}{2}$ —2 года . . . . .	0,15	0,3	0,8	2 000	6 000
2—5 лет . . . . .	0,25	0,5	1,2	3 000	8 000
5—10 лет . . . . .	0,3	0,7	+1,5	10 000	—
Старше 10 лет . . . . .	0,4	1,0	2,0	12 000	—

Противопоказания по опыту того же Института (Крестовникова):

1. Лихорадочное состояние.
2. Острые желудочно-кишечные заболевания.
3. Острые заболевания дыхательных путей у детей раннего возраста.
4. Период реконвалесценции после острых инфекционных болезней.
5. Атрофия.
6. Эксудативный диатез с резкими кожными явлениями.
7. Судорожные явления.
8. Тяжелая туберкулезная интоксикация с резким упадком питания.
9. Тяжелая анемия.
10. Болезни почек и лоханок.
11. Органические заболевания нервной системы.
12. Алергические состояния, устанавливаемые реакцией аллергии.
13. Болезни сердца у детей с декомпенсацией.

Иммунизация производится (при иммунизации по Коршуну, а также чистым токсином) после предварительного отбора детей с положительной реакцией Dick.

По окончании курса всем иммунизированным делается проба Dick, в случае исчезновения положительной реакции иммунизация продолжается. С моей точки зрения проба Dick на приобретенный иммунитет после прививки не обладает достаточной точностью, и потому с результатами можно не считаться и иммунизацию не продолжать. Исключением должны явиться случаи, где почти вся масса иммунизированных дает положительную реакцию; в таких случаях можно предполагать дефект прививочного материала. Во всяком случае окончательное разрешение этого вопроса—дело будущего.

## Иммунизация вакциной Златогорова

Златогоров, признавая желательность применения в качестве вакцинирующего материала микробных тел и токсина, считает необходимым для успешной вакцинации включить в вакцинирующий материал специфический скарлатинозный вирус. Таковой по его мнению находится в первых генерациях культур стрептококков от скарлатинозных больных. Присутствие вируса в культуре может быть обнаружено положительной эозинофильной реакцией при вприскивании культуры кролику.

По сводным данным Златогорова, сообщенным на съезде 1926 г., среди 17 998 человек, вакцинированных его вакциной, наблюдалось уменьшение заболеваемости в 5—12 раз и смертности в 2—3—15 раз по сравнению с непривитыми.

Реакции на прививку наблюдались общие (температура до 38°, разбитость, головные боли) в 6% и только местные—в 39%. Сыпи ни разу не наблюдалась. При вторичных прививках количество реагирующих снижалось.

При учете результатов прививок в Москве употреблялись следующие индивидуальные карточки, применение коих чрезвычайно важно для точной разработки получаемых при иммунизации против скарлатины и дифтерии результатов.

### КАРТА ПРЕДОХРАНИТЕЛЬНЫХ ПРИВИВОК

Пол: муж., жен.

Возраст: год . . . . . мес. . . . .

- |  |  |
|--|--|
| 1. Фамилия . . . . .<br>3. Адрес прививаемого . . . . .<br>. . . . . пер. . . . . дом . . . . .<br>. . . . . вол. . . . . селен. . . . .<br>4. Адрес места службы, учебного или детского учреждения . . . . .<br>5. Занятие прививаемого или его родителей . . . . .<br>6. Общее состояние здоровья: строение . . . . .<br>питание . . . . . слизист. оболочки . . . . .<br>железы . . . . .<br>7. Болеет ли в настоящее время: туберкулез (легких, костей, желез, кожи),<br>сифилис, малярия, некомпенсированный порок сердца, состояние нервной<br>системы . . . . .<br>8. Против какой болезни производится прививка: скарлатина, дифтерия . . . .<br>9. Время производства, реакция (Шика, Дика), год . . . . . мес. . . . . число . . . .<br>10. Реакция (Шика, Дика) истинная: слабая+, средняя++, сильная+++,<br>сомнительная±, ложная: слабая, средняя, сильная; отрицательная 0 . . . . | 2. Имя и отчество . . . . .<br>отд. . . . . мил. . . . . ул. . . . .<br>кварт. . . . . уезд . . . . .<br>. . . . . |
|--|--|

	П р и в и в к и							
	первичная иммуни- зация				вторичная иммуни- зация			
	1	2	3	4	1	2	3	4
11. Активная иммунизация . . . . .								
а) Время производства реакции . . . . .								
б) Состав выпрыснутого материала: токсин, вакцина, № серии, смесь, анатоксин . . . . .								
в) Колич. выпрыснутого материала . . . . .								
г) Местная реакция прив. (нет, сла- бая, средняя, сильная) . . . . .								
д) Общая реакция, t° . . . . .								
Самочувствие . . . . .								
Тошнота, рвота . . . . .								
Сыпь . . . . .								
Ангина . . . . .								
Язык . . . . .								
Белок в моче . . . . .								
Шелушение . . . . .								
Общая оценка реакции по совокуп- ности всех данных § 11 (слабая, средняя, сильная, резкая) . . . . .								

	П р о в е р к а			
	после первичной иммунизации		после вторичной иммунизации	
	1	2	1	2
12. Контроль результатов иммуниза- ции посредством реакции Шика, Дика . . . . .	через .. мес.	через .. мес.	через .. мес.	через .. мес.
(Обози. см. парагр. 10.)				

13. Заболел ли вакцинируемый (дифтерией, скарлатиной): да, нет, когда. . . . .
14. Был ли госпитализирован: да, нет. В какую больницу. . . . .
15. Тяжесть заболевания . . . . .  
Осложнения . . . . .  
Последовательные заболевания . . . . .
16. Исход (выздоровление, смерть) . . . . .
- 17: Примечание . . . . .

Подпись врача, производившего вакцинацию,  
наблюдающего учреждения.

### Местная иммунизация против скарлатины

Значительное количество сильных реакций при подкожной иммунизации всеми методами, отпугивающее население от прививок, а также стремление создать иммунитет более естественным и следовательно более надежным путем побудили Белоновского и Миллера искать других способов иммунизации.

Иммунизация против скарлатины входных ворот, т. е. носоглотки (относительно такой роли ее сомнений быть не может), по принципу

местной иммунизации Безредки, если она была бы возможной, казалась авторам наиболее естественной, простой и надежной.

Экспериментальные наблюдения и опыты массовой иммунизации такую возможность доказали.

### Техника применения местной иммунизации

Иммунизация заключается в пульверизации зева четыре дня подряд, каждый раз 1 см<sup>3</sup> вирус-токсина.

Пульверизация производится при помощи какого-либо пульверизатора с резиновым баллоном, дающего мелкую равномерную струю распыляемой жидкости. В качестве такового может служить носовой пульверизатор Симановского. Для того чтобы иметь возможность дозировать иммунизирующий материал числом сжатий баллона, предварительно определяется, сколько сжатий баллона надо сделать, чтобы распылить 1 см<sup>3</sup> (делалось 100 сжатий, причем струя направлялась в мензурку и делением числа всех сжатий на число скопившихся в ней куб. сантиметров вирус-токсина определялось число сжатий, потребных для пульверизации 1 см<sup>3</sup>). По нашим наблюдениям для распыления 1 см<sup>3</sup> вирус-токсина требуется обычно 20 сжатий.

При пульверизации кончик пульверизатора нужно держать на уровне зубов. Если зев нехорошо открыт, заставляют ребенка петь букву «А». У одних детей зев открывается хорошо, если при этом язык заставить высунуть наружу, у других, наоборот, — при языке, убранном в рот. Все же иногда зев плохо открыт; тогда несмотря на это начинают пульверизировать, и часто благодаря раздражению от струи вирус-токсина зев рефлекторно раскрывается. В крайнем случае можно прибегнуть к помощи шпателя.

При пульверизации следует держать некоторое время голову закинутой, затем проглотить оставшийся во рту материал.

Такой способ иммунизации оказался технически простым и позволяющим одному человеку за час пропустить до 60 человек.

При массовой иммунизации следует указать на необходимость после каждого пульверизированного обтирать кончик пульверизатора ватой, смоченной в спирте. Рекомендуются перед пульверизацией полоскать горло содовым раствором для удаления слизи.

Противопоказанием является общее лихорадочное состояние. Дети, страдавшие ангинами с ясно выраженными болезненными ощущениями, также первоначально не пульверизировались. Но после наблюдений Ионина и в особенности Масловского, даже лечившего ангины пульверизациями и полосканиями таким материалом, благоприятный эффект каковых мы в настоящее время можем подтвердить собственными наблюдениями, ангины не могут считаться противопоказанием для пульверизации.

При производстве массовой местной иммунизации против скарлатины в целях точного учета результатов рекомендуется пользоваться прилагаемыми инструкцией и индивидуальными картами.

Местный способ вакцинации применен уже более чем на 40 000 детей, причем установлена полная безвредность способа. Кроме того он выгодно отличается от способа подкожной иммунизации почти полным отсутствием реакции на иммунизацию и болезненных ощущений во время самой иммунизации.

Уменьшение заболеваемости среди привитых — в среднем в 7—12 раз.

## ОДНОВРЕМЕННАЯ ИММУНИЗАЦИЯ ПРОТИВ СКАРЛАТИНЫ И ДИФТЕРИИ

В последнее время Коршун предложил иммунизировать детей, у которых получились положительными и реакция Schick и реакция Dick, смесью комбинированной вакцины (или токсина) и дифтерийного анатоксина.

Бактериологическим институтом им. Пастера в Ленинграде применяется следующая схема дозировок (доклад Маслаковца на съезде микробиологов 1930 г.)

### Основные смеси

№ 1	анатоксина	0,5	скарлатинозного токсина . . . . .	400	STD
№ 2	»	0,6	» » . . . . .	1 200	»
№ 3	»	1,0	» » . . . . .	3 600	»

### Дозировки

Возраст	№ инъекции	№ смеси	Количество смеси
1—1½ г. . . . .	I	1	0,5
	II	1	1,0—1,5
	III	2	1,5—2,2
1½—3 л. . . . .	I	1	0,75
	II	2	1,0—1,2
	III	3	1,0—1,2
3—8 л. . . . .	I	1	1,0
	II	2	1,5
	III	3	1,5
8 л. и более . . . . .	I	2	0,5
	II	2	1,5
	III	3	1,5

Усиления тяжести реакций при этом способе не отмечается, но остается еще под некоторым сомнением вопрос об отсутствии угнетения одного антигена другим.

Преимущества же этого способа очевидны: он сокращает вдвое количество подкожных инъекций.

Сейчас идет проверка метода в отношении его действительности, и применение его может производиться лишь в порядке научного опыта.

## ВАКЦИНАЦИЯ ПРОТИВ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОГО МЕНИНГИТА

Производится при помощи трех инъекций вакцины из менингококка (поливалентной из всех агглютинационных типов, встречающихся в данной местности) с недельными интервалами. Дозы—250,

500 и 1 000 миллионов. Некоторые рекомендуют еще большие дозы и доходят до нескольких миллиардов. Прививки дают значительное нарастание антител, но предохранительная сила еще недостаточно выяснена ввиду малого числа привитых (Park-Williams, Pathogenic Microorganismus, 1924).

## ВАКЦИНАЦИЯ ПРОТИВ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ИНФЛУЕНЦЫ

Употребляется вакцина, приготовленная из *B. influenzae* в чистом виде или в смеси с *pneumococcus*, *streptococcus*, *micrococcus catarrhalis*, *staphylococcus* и т. п. Вакцина обычно готовится из штаммов, выделенных при данной эпидемии. Интервалы—1 неделя.

Дозировка: 1, 2 и 4 миллиарда бактерий.

В Америке получены блестящие результаты при помощи такой вакцинации. Быстро наступало купирование эпидемий (Park). Интересующихся деталями отсылаем к следующим литературным источникам: Садов, Эпидемический грипп (этиология, эпидемиология и профилактика), изд. Ленингр. мед. журн., 1926; Розенталь, Иммунитет, 1925, стр. 309.

## ВАКЦИНАЦИЯ ПО CALMETT ПРОТИВ ТУБЕРКУЛЕЗА

Принцип этой вакцинации заключается в иммунизации грудных детей при помощи культуры туберкулеза BCG (*Bacillus bovis Calmette Guerin*), ослабленной и превращенной в слабо вирулентный и поэтому неопасный штамм 13-летним выращиванием в желчи. Иммуногенные свойства однако такая культура сохранила. В качестве иммунизирующего материала применяется взвесь живых палочек культуры BCG густотой в 200 миллионов бактерий в 1 см<sup>3</sup>.

Иммунизация производится только на грудных детях до 10-дневного возраста (выбирают по преимуществу детей, подверженных большой опасности заражения, например в туберкулезных семьях и т. п.).

Вакцина дается с ложечки с молоком матери или кормилицы через день, начиная со второго или третьего дня жизни. Доза на каждый прием 1 сантиграмм (что примерно соответствует 400 миллионам бактерий).

Вакцина должна быть не старше 10 дней с момента приготовления.

Описываемый метод находится еще в стадии разработки. Для признания этого метода необходимо установить его безвредность и действительность. Первое, несмотря на ряд работ, подвергающих сомнению безвредность метода, после последней Парижской конференции осенью 1928 г. может считаться решенным в благоприятном для метода смысле. Вакцина безвредна. Степень действительности ее еще окончательно не установлена и нуждается в дальнейшем собирании материала. Полученные пока результаты показывают, что благоприятный эффект вакцинации вне сомнения; необходимо лишь точно выяснить степень его.

О продолжительности иммунитета говорить при молодости метода не приходится.

Пока Calmette предположительно считает срок иммунитета равным 3 годам, но вместе с тем рекомендует ежегодную ревакцинацию,

так как опыты на животных не дают уверенности в большой продолжительности иммунитета. Детальные сведения о вакцинации туберкулеза можно получить в книгах: Calmette, La vaccination préventive contre la tuberculose par le BCG, 1927 (Masson), вышедшей и в русском переводе, и Kraus, Über die Grundlagen der Schützimpfung gegen Tuberculose nach Calmett mit BCG (Handbuch der path. Mikr. Kolle, Kraus, Uhlenhut, 1928).

## **ОСПОПРИВИВАНИЕ И АНТИРАБИЧЕСКИЕ ПРИВИВКИ**

За недостатком места и имея в виду наличие солидных монографий по этим вопросам на русском языке, я не буду на них останавливаться и отошлю интересующихся к следующим источникам: Саватеев, Бешенство, 1927; Гамалея, Оспопрививание, изд. 2-е, 1924; Морозов и Соловьев, Оспа и оспопрививание, 1932; Власьевский, Любарский и Хатенев, Руководство по вакцинно-сывороточному делу, 1934.



## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Описание нитрифицирующих бактерий

I. *Nitrosomonas europaea*. Палочка 0,9—1,0/1,1—1,8  $\mu$  располагается одиночно, изредка цепочки, подвижна, жгутик в три раза длиннее тела палочки. Образует зооглеи на дне жидких сред. Растет лишь на неорганических средах. На силикатной среде небольшие компактные коричневатые колонии.

*Nitrosomonas javanensis*. Жгут в 20 раз длиннее тела.

II. *Nitrosomonas groningensis* (Sack). Палочка 0,4/0,6  $\mu$ , неподвижна, грамм-отрицательна. Колонии на желатине и агаре небольшие, круглые, бесцветные, блестящие, желатина медленно разжижается.

На силикатной среде круглые компактные бесцветные колонии. В бульоне муть. В лакмусовой сыворотке щелочеобразование. Индола не образует, переводит нитраты в нитриты в анаэробных условиях.

Целлюлоза медленно разрушается. С получают из  $\text{CO}_2$  глюкозы, левулезы, мальтозы, сахарозы и аспарагина.

III. *Nitrosococcus*. Крупные кокки до 1,7  $\mu$ , на обыкновенных средах не растут. На силикатных большие светлые, прозрачные, желтоватые зернистые колонии.

IV. *Nitrobacter Winogradsky*. Палочка неподвижна 0,6—0,8/1,0—1,2  $\mu$ , на вымоченном агаре колонии небольшие, круглые или неправильной формы, коричневатые. Аэроб.

V. *Nitrobacter punctatus* (Sack). Палочка неподвижна,  $\frac{2}{3}$   $\mu$ , грамм-положительна. Желатина медленно разжижается. Колонии на нитрит-агаре круглые с волнистым краем, зернистые. Лакмусовая сыворотка с нитритом без изменений. Индола не образует. Целлюлоза разлагается. Аэроб.

VI. *Nitrobacter flavus* (Sack). Палочка 0,5/2  $\mu$ , неподвижна, грамм-отрицательна, растет на картофеле, индол образует, сероводорода не образует, желатину не разжижает.

VII. *Nitrobacter opacus* (Sack). Палочка 0,2/2  $\mu$ , неподвижна, грамм-положительна. На агаре круглые оранжевые колонии. Желатину разжижает, нитрит, лакмусовая сыворотка не изменяется. Индола и сероводорода не образует. Целлюлозу разлагает.

Свойства некоторых видов микроорганизмов, участвующих  
(амонификаторы, денитрифицирующие, разлагающие

Род и вид микроор- ганизмов	Морфология	Окраска по Грамму	Строение колоний
Род <i>Klebsiella proteolytica</i>	Палочки $2 \times 1 \mu$ , иногда нити, капсула, неподвижны.	—	С ровным краем, круглые 5—6 мм, мутные, бесцветные, гладкие, просвечивающие
Род <i>Achromobacter liquefaciens</i> ( <i>B. liquefaciens</i> )	Палочки $1,5 \times 0,6 \mu$ , подвижны, иногда полярная окраска	—	Круглые, 3—4 мм, ровный край, выпуклые, гладкие, бесцветные, мутные, просвечивающие
<i>Achromobacter superficialis</i>	Коккибацилла $2 \times 1,5 \mu$ , иногда цепочки, неподвижная	—	Круглые, с ровным краем, сочные, выпуклые, влажные, непрозрачные, 4 мм
<i>Achromobacter geminum</i> ( <i>B. geminus</i> Ravenel)	Палочки $1 \times 0,5 \mu$ , подвижны	—	Круглые, плосковыпуклые, 3—4 мм, с слегка волнистым краем, шероховатой поверхностью, мутные, просвечивающие
<i>Achromobacter reticularum</i> ( <i>B. reticularis</i> )	Палочки $1,5 \times 0,5 \mu$ , подвижны	—	Круглые, плосковыпуклые, гладкие, концентрически исчерченная поверхность, мутноватые, почти прозрачные, 4 мм
<i>Achromobacter candidans</i> ( <i>B. candidans</i> )	Коккибацилла $1 \times 0,6 \mu$ , неподвижная	—	Круглые выпуклые с ровным краем, влажные, молочномутные, непрозрачные, крупные
<i>Achromobacter refractum</i> ( <i>B. refractum</i> Wright)	Палочки $2 \times 0,5 \mu$ , неподвижны	—	Круглые, выпуклые, 2 мм, шероховатые, опаловомутные, просвечивающие
<i>Achromobacter nitrovorum</i> ( <i>B. nitrovorum</i> Jensen)	Палочки $1,2 \times 0,8 \mu$ , часто нити, подвижны	—	Круглые, 5—10 мм, плоские, шероховатые, с концентрическими кольцами, молочномутные, прозрачные
<i>Achromobacter putridum</i> (Штруцер)	Палочки $1,5 \times 0,6 \mu$ , иногда нити, неподвижны	—	Круглые, плосковыпуклые, 3—4 мм, сочные, с гладкой поверхностью, слабопросвечивающие. На среде Эндо в центре красные и по периферии бесцветные
<i>Achromobacter alcaligenes</i> (Штруцер)	Палочки $2 \times 0,5 \mu$ , иногда цепочки, неподвижны	—	Круглые, плоские, с ровным краем, с узелком в центре, гладкие, бесцветные, прозрачные, 5 мм
<i>Achromobacter minutum</i> (Штруцер)	Палочки $1 \times 0,5 \mu$ , подвижны	—	Круглые, волнистый край, плоские, бесцветные, гладкие, прозрачные, 10 мм

в круговороте азота и находимых в почве и сточных водах мочевины и др.) по Bergey, Штуцеру и Взорovu

Разжижение яслины	Лакмусовая сыворотка	Молоко	Среды Барзикова или синтетические			Бутыл М. П.	Индол	H <sub>2</sub> S	H <sub>2</sub> N	Редукция нитритов	Гидролиз крахмала
			с глюкозой	с лактозой	с маннитом						
++	—	С	К	—	К	М	+	—	+	+	в нитриты
++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	Щ	К (3 д.)	К	—	—	МО	—	—	—	—	—
—	К (2 д.) Щ (5 д.)	Щ (5 д.)	К	—	—	М	+	+	+	+	в нитриты
—	К	+	К	К	К	М	—	+	—	+	в нитриты
—	—	П	—	—	—	МО	—	—	—	—	—
—	—	Щ	—	—	—	М	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	М	—	—	—	+	в азот
+	—	—	К	К	К	М	+	—	—	++	в нитриты
+	Щ	+	К	—	К	МП	—	—	—	++	в нитриты
+	К	—	К	—	—	М	+	—	+	++	в нитриты

Род и вид микроорганизмов	Морфология	Оценка по Граму	Строение колоний
<i>Achromobacter agile</i> (B. denitrificans agilis)	Палочки $1,5 \times \times 0,5 \mu$ , подвижны	—	Круглые, полупрозрачные, беловатые, отлоговыпуклые, до 0,5 мм (через 48 ч.)
<i>Achromobacter Stutzeri</i> (B. denitrificans II)	Палочки $1,7 \times \times 0,8 \mu$ , неподвижны	—	Круглые, с ровным краем, выпуклые, коричнево-белые, влажные, малопрозрачны, плотные, до 2 мм
<i>Achromobacter Severini</i> (V. denitrificans II Hofflich)	Палочки $1,5 \times \times 0,4 \mu$ , иногда до 10 $\mu$ . иногда изогнуты, подвижны	—	Круглые, с зубчатым краем, плоско выпуклые с центральным соском, радиально исчерчены, непрозрачные, жесткие, сухие, до 3 мм
<i>Achromobacter Burrii</i> (Взоров)	Палочки $1,5 \times \times 0,4 \mu$ , подвижны	—	Круглые, с зубчатым краем, плоские, с возвышенным центром, бесцветные, влажные, шероховатые, прозрачные, консистенция вязкая, до 1—2 мм
<i>Achromobacter singularis</i> (Взоров)	Палочки, часто изогнутые, $3 \times 1 \mu$ , вакуолизированы, подвижны	—	Круглые, плосковыпуклые, сероватые, влажные, непрозрачные, до 0,7 мм
<i>Achromobacter solidum</i> (B. aquatilis solidus)	Палочки $1,5 \times \times 0,5 \mu$ , подвижны	—	Круглые, плосковыпуклые, с центральным соском, полупрозрачные, влажные, в центре желтоватые, до 3 мм
<i>Achromobacter polyfermentum</i> (Взоров)	Палочки $1,5 \times \times 0,7 \mu$ , неподвижны	—	Круглые, с ровным краем, плосковыпуклы, беловатые, влажнооблестящие, непрозрачные, радиально исчерченные, до 1,5 мм
Род <i>Flavobacterium</i> . <i>Flavobacterium flavotenuiae</i> Schrire	Палочка, иногда изогнутая $2 \times \times 0,5 \mu$ , неподвижна	—	Круглые, отлоговыпуклые, полупрозрачные, глянцевитые, лимонножелтые, 1 мм
<i>Flavobacterium denitrificans</i> (B. denitrificans I, Stutzeri)	Палочки $1 \times \times 0,5 \mu$ , подвижны	—	Круглые или неправильные, с лопастым краем, центр возвышен, радиально исчерчены, полупрозрачны, флуоресцируют, до 3—8 мм
<i>Flavobacterium Shirokikh</i> (Jensen)	Палочка $2 — 3 \times 0,4 \mu$ , подвижна, часто би-полярна	—	Круглые, края ровные или слабо волнистые, плосковыпуклые, с возвышением в центре, желтые, полупрозрачные призрачные, до 2 мм
<i>Flavobacterium aquatilis</i> (B. aquatilis)	Палочки $3 \times \times 0,8 \mu$ , подвижны	—	Круглые, плосковыпуклые, края круто ниспадают и переходят в плоскую шероховатую каемку, гладкие, песочного цвета, просвечивающие

Разжижение желатины	Линкусовая свертка	Молоко	Среды Барзикова или синтетические			Бульон М. П.	Индол	H <sub>2</sub> S	NH <sub>3</sub>	Редукция нитритов	Гидролиз крахмала
			с глюкозой	с лактозой	с маннитом						
—	не растет	—	Щ*	Щ*	Щ*	М	—	—	—	++ в азот	—
—	—	—	К	—	К	М	—	+	—	++ в азот	—
—	Щ	Щ	Щ*	Щ*	Щ*	М П	—	—	—	++ в азот	++
—	Щ	—	Щ*	Щ*	Щ*	М	—	—	—	+	—
—	Щ	Щ	Щ*	Щ*	Щ*	М М	—	—	—	++ в азот	—
—	К 24 ч. Щ 38 ч.	Щ	К	— редукц.	К	М	—	—	—	+	—**
—	или Щ	Щ	КГ	—	КГ	П	—	+	+	++ в азот	+
—	К	—	К	—	—	М	—	—	—	+	—
—	Щ	—	Щ*	Щ*	Щ*	М	—	—	+	нит- риты	—
+	Щ	Щ	Щ*	Щ*	Щ*	М П	—	+	+	++ до N	+
+	К	—	К	—	К	М	—	—	—	+	—

Род и вид микроорганизма	Морфология	Окраска по Граму	Строение колоний
<i>Flavobacterium flavescens</i> (B. flavescens)	Палочки 1,5××0,8 м, подвижны	—	Круглые, плоские, желтоватые, просвечивающие, мелкие
<i>Flavobacterium aurantiacum</i> (B. aurantiacus)	Палочка 1,5××0,6 м, подвижна	—	Круглые, плосковыпуклые, края отлэгие, поверхность гладкая, оранжевого цвета, мутные
Под Serratia. <i>Serratia roseus</i> (B. mycoides roseus)	Палочки 1,5××0,8 м, подвижны	—	Неправильной формы, плоские, сухие, со складчатой поверхностью, бесцветные на агаре, розовые на картофеле, непрозрачные
Род <i>Alcaligenes</i> . <i>Alcaligenes faecalis</i> (B. faecalis alcal.)	Палочки 1—2××0,5 м, плохо красятся, подвижны	—	Круглые, 5 мм, плоские R и S типы, бесцветные, прозрачные, центр мутнее
<i>Alcaligenes recti</i>	Палочка 1,5××0,5 м, неподвижна	—	Круглые, сероватые, слегка шероховатые, концентрические уступы малопрозрачны, центр буроватый, непрозрачный, до 2—6 мм
Род <i>Streptococcus</i> . <i>Streptococcus faecalis</i> (Enterococcus)	Овальные диплококки	+	Круглые, мелкие, до 1 мм, S—гладкие, прозрачные, R—широковатые, непрозрачные
Род <i>Pseudomonas</i> . <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (B. pyocyaneum)	Палочки 1,5××0,5 м, подвижны	—	Широко расплывающиеся колонии с более темным центром, прозрачная периферия неправильной формы, среда окрашивается в сине-зеленый цвет
Род <i>Proteus</i> . <i>Proteus Dahlem</i> (B. Dahlem)	Палочки 1×0,5 м, подвижны	—	Круглые, края ровные, 5 мм, сочные, выпуклые мутные, прозрачные, S и R типы
Сем. <i>Bacillaceae</i> Род <i>Bacillus</i> . <i>B. subtilis</i>	Палочки 4×1 м, иногда цепочки, подвижны. Центральные споры	+	Расплывающиеся неправильной формы, непрозрачные с волнистым краем
<i>B. mesentericus</i>	То же, иногда капсулы	+	То же
<i>B. mycoides</i>	То же, без капсул	+	То же с древовидными ответвлениями
<i>B. luteus</i> *	То же	+	Круглые, плосковыпуклые, с ниспадающим и ровным краем, матовые, непрозрачные, лимонножелтого цвета

Разжижение желатины	Лантусовая сывортка	Молоко	Среды Барзикова или синтетические			Бульон М. П.	Индол	H <sub>2</sub> S	NH <sub>3</sub>	Редукция ни- тригов	Гидролиз крах- мала
			с глюко- зой	с лакто- зой	с манни- том						
—	—	—	—	—	—	М	—	—	—	—	—
+	К	—	К	—	—	МО	—	—	—	+	—
—	—	—	К медленно	К	—	П М	—	—	следы	++ в нит- риты	—
—	Щ	Щ	—	—	—	М	—	—	—	»	—
+	Щ	Щ	Щ	Щ	Щ	М	—	—	+	»	—
—	К	+	К	К	—	МО	—	—	—	—	—
+	Щ	+	—	—	—	М	—	—	—	++ в нит- риты и азот	—
—	—	—	КГ	—	—	МОП	+	+	+	+	—
+	Щ	ЩП	К	—	—	П М	—	+	—	+	+
+	—	П	К	—	—	ПМ	—	+	—	—	—
+	—	П	К	—	—	ПМ	—	—	—	+	—
+	—	—	К	—	—	М	—	—	—	—	—

Род и вид микроорганизма	Морфология	Окраска по Граму	Строение колоний
Микроорганизмы, разлагающие мочевины			
Bacillus probatus Viehoever (Ur. bac. Leubei, B. ureae II, III Burri u. Stutzer, B. urobac. Freudenreichii, B. ureae Leube)	Палочки $2,5 \times 0,8 \mu$ , иногда до $30 \mu$ , подвижны, круглые споры диаметр. до $1 \mu$	+	На агаре с мочевиной круглые, с ровными краями, центр возвышенный, грязнокремовые, влажные, непрозрачные, до 8 мм, растут на обыкновенном агаре
Bac. duclanxi	Палочки $3 \times 0,6 \mu$ , подвижны, овальные споры, $1 \times 1,3 \mu$	+	Круглые, зубчатые края, сероватые, полупрозрачные, под микроскопом курчавые края, до 4 мм, на обыкновенном агаре не растут
B. decipiens (Взоров)	Палочки $1-1,5 \times 0,3-0,7 \mu$ , спорососны, подвижны	+	Круглые, валикообразные края, центр возвышенный, до 3 мм, растут на обыкновенном агаре
Micrococcus ureae Cohn	Овальные кокки $0,6 \times 0,9 \mu$ , неподвижны, в бульоне цепочки	+	Круглые с ровным краем, в центре впадина, беловатые, блестящие, до 3 мм, растут на обыкновенном агаре
Achromobacter amylovorum (Rubentschik)	Палочки $3 \times 1 \mu$ , споры образуют, подвижны	—	Круглые, с ровными или мелкозубчатыми краями, мало прозрачные, на обыкновенном агаре скудный рост
Pseudomonas ureae	Палочки $2 \times 0,7 \mu$	+	Круглые, серовато-белые
Planosarcina ureae	Сарцины подвижны $0,7 \times 1,2 \mu$ , спороподобные образования	+	Круглые, небольшие, желтоватые, плоские
Alcaligenes ammoniagenes Cooke	Палочки $0,8 \times 1,7 \mu$ , неподвижны	—	Круглые, плоские, ровные края, гладкие, сероватые

#### Обозначения:

- К—кислотообразование  
 Г—газообразование  
 Щ—щелочеобразование  
 С—свертывание молока  
 П—пептизация молока  
 М. О. П. (в бульоне)—муть, осадок, пленка  
 — в углеводных средах инактивен

Примечания: \*. Щелочеобразование только в средах Барзикова, в  
 \*\*. Разлагает мочевины в  $\text{NH}_3$ ; глицерин, галактозу,



Разжижение испатыны	Лакмусовая сыворотка	Молоко	Среды Барзикова или синтетические			Бульон М. П.	Индол	H <sub>2</sub> S	NH <sub>3</sub>	Редукция нит- ритов	Гидролиз крах- мала
			с глюко- зой	с лакто- зой	с манни- толом						
+	К	—	К	—	—	МО	—	+	+	—	—
или											
—											
+	не растет	—	—	—	—	МО	—	—	—	—	—
+	—	—	—	—	—	МО	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	МО	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	М	—	—	—	—	+
+		П				М	—	+	+	+ С образ. газа	
—		Щ	—	—	—	МО	—				

синтетических щелочеобразования нет.  
эскулин и салицин разлагает с образованием кислот.

Таблица 2

[illegible]

1 Пептонизация. К — образование кислот; Щ — щелочи; КЩ — сперва кислотообразование, затем щелочеобразование.

Таблица 3

Состав группы Coli-aerogenes (Genus XVII Escherichia и XVIII Aerobacter по Bergey Determinative Bacteriology, 1930) и дифференциальная диагностика

	Реакция Voges-Proskauer	Сахароза	Желатина	Подвижность	Салици	Редукция нитратов	Молоко	Индол	Дульцит
<i>Escherichia coli</i> . . .	—	—	—	+	КТ	+	КС	++	
» <i>paragrünthali</i> . . .	—	—	—	+	КТ	+	КС	+	
» <i>schaefferi</i> . . . . .	—	—	—	+	КТ	+	К	+	
» <i>vekanda</i> . . . . .	—	—	—	+	КТ	+	КЩ	—	
» <i>formica</i> . . . . .	—	—	—	+	—	+	КС	—	
» <i>pseudodysenteriae</i> . . .	—	—	—	+	—	—	КЩ	+-	
» <i>grünthali</i> . . . . .	—	—	—	+	—	+	КЩ	+7 д.	
» <i>anaerogenes</i> . . . . .	—	—	—	—	К	+	КС	+	
» <i>enterica</i> . . . . .	—	—	—	—	КТ	+	КС	+	
» <i>vesiculiformans</i> . . .	—	—	—	—	—	+	КС	++	
» <i>foetida</i> . . . . .	—	—	—	—	—	+	КС	++	
» <i>acidi lactici</i> . . . . .	—	—	—	—	—	+	КС	+	
» <i>alba</i> . . . . .	—	—	+	+	—	+	К	+	
» <i>communior</i> . . . . .	—	КТ	—	+	КТ	+	КС	+	
» <i>anindolica</i> . . . . .	—	КТ	—	+	—	+	КС	—	
» <i>alcalescens</i> . . . . .	—	КТ	—	+	—	+	КЩ	+-	
» <i>leporis</i> . . . . .	—	КТ	+	+	КТ	+	КС	+	
» <i>noctuarii</i> . . . . .	—	КТ	+	+	КТ	—	КЩ	—	
» <i>sphingidis</i> . . . . .	—	КТ	+	+	КТ	—	КЩ	—	
» <i>ichtyosmia</i> . . . . .	—	КТ	+	+	—	+	К	+	
» <i>gastrica</i> . . . . .	—	КТ	+	+	—	+	КС	—	
» <i>iliaca</i> . . . . .	—	КТ	+	+	—	+	КСП	—	
» <i>plebeia</i> . . . . .	—	КТ	+	—	КТ	+	КЩ	+-	
» <i>neapolitana</i> . . . . .	—	КТ	—	—	КТ	+	КС	+	
» <i>pseudocoscrobac</i> . . .	—	КТ	—	—	—	+	КС	+	
» <i>astheniae</i> . . . . .	—	КТ	—	—	—	+	КС	—	
» <i>galactophila</i> . . . . .	—	КТ	—	—	—	+	КЩ	—	
<i>Aerobacter aerogenes</i> . .	+	КТ	—	—	КТ	+	КС	—	КТ
» <i>oxytocom</i> . . . . .	+	КТ	—	—	КТ	+	КС	+	КТ
» <i>chinense</i> . . . . .	+	—	—	—	?	?	КС	—	—
» <i>cloacae</i> . . . . .	+	КТ	+	+	КТ	+	КСП	+-	—
» <i>bombycis</i> . . . . .	+	КТ	+	+	?	?	КСП	—	?
» <i>levans</i> . . . . .	+	—	+	+	КТ	+	КС	?	—

## Обозначения:

К—кислотообразование

Г—газообразование

Щ—щелочеобразование

С—свертывание молока

П—пептонизация

— инактивен в углеводных средах

**Практическая схема классификации молочнокислых**

	Группы	Streptococcus lactis		B. casei	
		Признаки клетки	Признаки колоний	Признаки клетки	Признаки колоний
Морфологические признаки		Овальные моно-дипло- и стрептококки. Окрашиваются по Граму, неподвижны		Довольно длинные палочки. При окрашивании метиленовой синькой часто дают «метахроматические» зернышки. Окрашиваются по Граму. Всегда неподвижны	
		Растут на обычных мясо-пептонных средах. Поверхностные колонии мелкие (до 1 мм), в виде бесструктурных капелек. Факультативные анаэробы		Не растут на обычных мясо-пептонных средах. На молочных средах не дают поверхностных колоний. Глубинные колонии в виде тонковолокнистых неправильных скоплений («паучки»). Анаэробный характер более резко выражен, чем у предыдущей группы	
		Практически отсутствует, так же как и образование летучих кислот		Практически отсутствует, так же как и образование летучих кислот	
		Очень высокая: нормальные расы в нормальном молоке при 30° вызывают свертывание в течение 10—12 часов (при минимальном заражении). Кислотность в момент свертывания обыкновенно нормальная		Очень высокая, но при 30° обыкновенно ниже, чем у str. lactis. Зато при 40—45° энергия часто выше, чем у микробов предыдущей группы. Кислотность в момент свертывания нормальная	
		В нормальном молоке никогда не превышает 120° Тернера		Почти всегда превышает 120° Тернера, достигая иногда 200—300° и даже 450°	
Физиологические признаки	Газообразование				
	Энергия кислотообразования				
Синонимы и виды	Предел кислотообразования	Нормальное развитие от 10° до 40°. Оптимальные температуры чаще всего 30—35°		Нормальное развитие обыкновенно не ниже 20°. Оптимальные температуры—40—50°. Нередко почти типичные термофилы	
	Темпер. границы развития				
Синонимы и виды		Str. acidi lactici Grotenfelt Str. lacticus Kruse Bacillus lactis acidi Leichmann Bact. Güntheri L. et N. «Лейхмановский» микроб «Гюнтеровский» микроб «Европейский» микроб Молочнокислый микроб		Bacillus lactis acidi Leichmann Lactobacillus Beijerinck Thermobacterium Orla-Jensen Plocamobacterium L. et N. «Болгарский» микроб (или «палочка») «Мечниковский» микроб «Сырная палочка»	

бактерий (на основе схемы Лениса) по Королеву

Coli-aërogenes	Micrococcus pyogenes
Мелкие палочки, склонные к полиморфизму. Подвижные или неподвижные. Не окрашиваются по Граму	Клеточки правильно шарообразной формы. Нередко образуют тетрады (переход к сарцине). Неподвижны. Всегда окрашиваются по Граму
Обильно растут на обычных мясо-пептонных средах. Поверхностные колонии крупные, часто с неровным краем. Характер роста определенно аэробный	Обильно растут на обычных мясо-пептонных средах. Поверхностные колонии крупные, почти всегда ярко окрашенные. Характер роста определенно аэробный
Всегда резко выражено. Всегда образуют заметные количества летучих кислот	Обыкновенно не наблюдается
Низкая: при указанных условиях свертывание никогда не происходит в течение первых суток.	Еще слабее, чем у представителей группы Coli-aërogenes. Многие формы вовсе не свертывают молоко. При этом пункт свертывания почти всегда отклоняется от нормы чаще в сторону понижения, вследствие выделения сычужного фермента
Всегда ниже 100° Тернера. Чаще всего 70—80°	Обыкновенно не превышает 50—60° Тернера
Предельные температуры 10—45°. Оптимум 37—40°	Минимальная температура может спускаться ниже 10° Оптимум 30—35°
Неподвижные формы: Bacterium acidi lactici Hüppe Aërobacter Beijerinck Bacterium aërogenes Escherich Подвижные формы: Bacterium coli (Escherich) L. et N. Bacterium coli commune Escherich Escherich Castellani et Chalmers «Кишечная палочка» «Коли»	Micrococcus lactis acidi Marpmann Staphylococcus Rösenbach Leichmann Виды: Micrococcus pyogenes Rosenb. колонии белые и желтые Micrococcus candicans Flügge колонии белые Micrococcus coronctus Cohn колонии белые Micrococcus sulfureus Zimmermann колонии желтые Micrococcus badius L. et N. колонии желтые, бурые Micrococcus aurantiacus Cohn колонии оранжево-желтые Micrococcus roseus L. et N. колонии розовые Micrococcus cerasinus L. et N. колонии яркокрасные

## ГЛАВНЕЙШАЯ ЛИТЕРАТУРА, ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ПРИ СОСТАВЛЕНИИ КНИГИ

1. K o l l e - K r a u s - U h l e n h u t h, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 3 Auflage.
2. З л а т о г о р о в, Учение о микроорганизмах, 1916.
3. S o m m e r f e l d, Handbuch der Milchkunde, 1926.
4. М а к р и н о в, Молоко и молочное дело, 1924.
5. Гигиена молока и молочных продуктов, под ред. Сысина и Бархана, 1929.
6. Х у д я к о в, Сельскохозяйственная микробиология, 1926.
7. Н а у м о в, Общий курс фитопатологии, 1926.
8. Б е л о н о в с к и й, Вакцинация против туберкулеза по методу Calmett, Журн. для усов. врачей, 1927, № 9.
9. Ш а п ш е в, О свойствах некоторых преципитинов, действующих на денатурированные белки, дисс., 1913.
10. Analyse des eaux. Méthodes et procédés employés par le Laboratoire du Conseil supérieur d'Hygiène publique de France, 1913.
11. Л е в и н с о н, Бактериологический метод истребления вредных грызунов, 1923.
12. Труды VIII, IX, X и XI съездов бактериологов, эпидемиологов и санврачей СССР.
13. М е р е ж к о в с к и й—ряд статей в трудах отдела с.-х. микробиологии.
14. Dujarris de la Rivière. La desinfection.
15. W e y l's, Handbuch d. Hygiene.
16. Х л о п и н, Методы санитарных исследований, 1928.
17. Сборник «Санитарное законодательство», 1926.
18. З л а т о г о р о в, Учение об иммунитете, 1928.
19. О м е л я н с к и й, Практическое руководство по микробиологии, 1922.
20. О м е л я н с к и й, Общая микробиология, 1925 и 1931.
21. Park, Williams, K r u m v i d e, Pathogenic Mikroorganismus, 1924.
22. J o r d a n and Falk, The never knowledge of bacteriology and immunology, 1928.
23. Стандартные методы исследования питьевых и сточных вод, 1927.
24. Standfuss, Bacteriologische Fleischschau, 1927.
25. H a d l e y, Microbic Dissociation, The Journ. of Inf. Dis., 1927.
26. K r a u s u. U h l e n h u t h, Handbuch der mikrobiologischen Technik, 1924.
27. Р о з е н, Практическое руководство по бактериологической технике, 1927.
28. Р о з е н, Бактериология практического врача, 1926.
29. А р х и п я н ц, Микробиолог. журн., 1916.
30. М и л л е р, Этиология и специфическая профилактика скарлатины, 1928.
31. Б е з р е д к а, Местная иммунизация, 1928.
32. Weinberg et Ginsburg, Données récentes sur les microbes anaérobies, 1927.
33. И л ь к е в и ч, Грибы—разрушители дерева, 1916.
34. Г р о з д о в с к и й, Исследование воздуха промышленных заведений, 1924, и ряд статей из периодической литературы.
35. Ш у л ь г и н а, Микроорганизмы почвы и ее плодородие.
36. Ш т у ц е р, В з о р о в, Статьи в сборнике Краевого микробиологического института в Ростове-на-Дону (печатаются).
37. Р у б е л ь, К характеристике микробов нитрификации, дисс., 1913.

38. Ма к р и н о в, О нитрификации при биологической очистке сточных вод, Труды с.-х. лаб., 1913, том IV.
39. О м е л я н с к и й, Почвенная микробиология.
40. Труды водопроводных съездов.
41. В л а с ь е в с к и й, Л ю б а р с к и й и Х а т е н е в е р, Руководство по вакцинному и сыероточному делу, 1934.
42. Г л о т о в а, Анаэробы и болезни, ими вызываемые, 1935.
43. J o r d a n, Food Poisoning and Food—Borne Infection, 1930.
44. В е л и к а н о в, Микробиология консервов, 1935.
45. Н и к и т и н с к и й и А л е е в, Микробиология скоропортящихся продуктов.
46. З д р о д о в с к и й, Учение о бруцелозе.
47. Bergeys Manual of determinative Bacteriology, 1934.
48. К о р о л е в, Основы технической микробиологии молочного дела, 1932.
49. К р и ч е в с к и й, Микробиология инфекционных болезней у человека, 1934.
50. Учебник гигиены. Под редакцией проф. Сысина, 1934.

Редактор С. Рафалькес. Техредактор  
Р. Дементьева. Зав. граф. ч. Е. Смет-  
хов. Зав. коррект. Л. Голицына.  
Ответ. за вып. в типогр. П. Маркелов

---

Уполномоченный Главлита Б 15416.  
Биомедгиз 201. МД 11. Тираж 12 200.  
Формат  $62 \times 94/_{16}$ . Печ. л.  $20^{3/4}$ . Знак.  
в печ. л. 50,590. Авт. л. 27,89. Сдано  
в тпц. 22/V 1935. Подп. к печ.  
14/XI — 26/XI 1935. Заказ 699.

Цена 5 руб. Переплет 60 к.

---

16-я тпц. треста «Полиграфкнига»,  
Москва, Трехпрудный пер., д. 9